



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Académico Profesional de Ciencia de los Alimentos

**Distribución en subpoblaciones peruanas del
polimorfismo -13910 C/T en el gen LCT/MCM6
implicado en la persistencia de la lactasa e intolerancia
a la lactosa**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Licenciada en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos**

AUTOR

Jackeline Magaly ACOSTA ROBLES

ASESOR

Oscar ACOSTA CONCHUCOS

Lima, Perú

2016



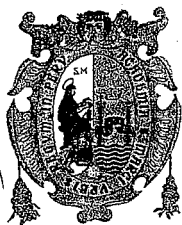
Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Acosta J. Distribución en subpoblaciones peruanas del polimorfismo -13910 C/T en el gen LCT/MCM6 implicado en la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Académico Profesional de Ciencia de los Alimentos; 2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

DECANATO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"DISTRIBUCIÓN EN SUBPOBLACIONES PERUANAS DEL POLIMORFISMO-13910 C/T EN EL GEN LCT/MCM6 IMPLICADO EN LA PERSISTENCIA DE LA LACTASA E INTOLERANCIA A LA LACTOSA"

Que presenta la Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos:


JACKELINE MAGALY ACOSTA ROBLES

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación ha obtenido la siguiente calificación:

Dieciocho (18) (Sobresaliente)

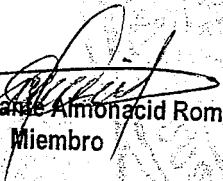
en conformidad con la R.R. N.º 02058-R-08 del 21 de mayo del 2008 para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Título Profesional de Licenciado(a) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 08 de febrero del 2016


Dr. Fernando Gilbert Quevedo Ganoza
Presidente


Dr. Víctor Crispín Pérez
Miembro


Dra. Amparo Iris Zavaleta Pesantes
Miembro


Q.F. Robert Darío Almonacid Roman
Miembro

"FARMACIAS LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres ya que gracias a su apoyo me han permitido culminar el trabajo de tesis, a mis hermanos, familiares y a Erick por su apoyo y buenos consejos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por haberme permitido llegar a esta etapa de mi vida, a mi madre la Virgen María por guiar mis pasos y protegerme siempre.

Agradezco la orientación, la paciencia y el apoyo brindado de mi asesor de tesis, el Mg. Oscar Acosta, a la Facultad de Medicina de la Universidad por brindarme la facilidad de utilizar las muestras de Lima y Puno en el banco de ADN, a la familia Corimanya por haberme acogido en su casa en Cusco y a todas las personas que han contribuido para poder realizar este trabajo de investigación.

Agradecer a mi familia, a mis padres y hermanos por acompañarme y apoyarme siempre, por enseñarme a ser constante y responsable con las cosas que me proponía. A Erick por su apoyo, amor, por sus consejos y buenos deseos.

Al VRI- UNMSM, por el financiamiento de ésta investigación , con el apoyo del Fondo de promoción de trabajo de tesis de pregrado.

ABREVIATURAS

GLU:	Glucosa.
GAL:	Galactosa.
HPTA:	Hipolactasia tipo adulto.
NPL:	No persistencia de la lactasa.
PL:	Persistencia de la lactasa.
ML:	Malabsorción de lactosa.
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
THE:	Test de hidrógeno espirado.
DCL:	Deficiencia congénita de lactasa.
HW:	Equilibrio de Hardy – Weinberg.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
ÍNDICE GENERAL.....	V
RESUMEN	VI
ABSTRACT.....	VII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 LACTOSA.....	5
2.2 INTOLERANCIA A LA LACTOSA.....	6
2.3 MALABSORCIÓN DE LACTOSA.....	6
2.4 HIPOLACTASIA.....	6
2.4.1 DEFICIENCIA CONGÉNITA DE LACTASA.....	7
2.4.2 LA HIPOLACTASIA SECUNDARIA.....	7
2.4.3 HIPOLACTASIA TIPO ADULTO.....	7
2.5 MECANISMO DE LA INTOLERANCIA A LA LACTOSA	8
2.6 INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y SU RELACIÓN CON OTROS SINDROMES	10
2.7 PRUEBAS DE DETECCIÓN DE MALABSORCIÓN DE LACTOSA.....	11
2.7.1 PRUEBA DE TOLERANCIA A LA LACTOSA.....	11
2.7.2 TEST DE HIDRÓGENO ESPIRADO.....	12
2.7.3 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE BIOPSIA YEYUNAL.....	13
2.7.4 PRUEBA DE GAXILOSA.....	13
2.7.5 PRUEBA DE pH FECAL.....	13
2.7.6 ASOCIACIÓN CON LA PRUEBA GENÉTICA.....	14
2.8 TRATAMIENTO PARA LA HIPOLACTASIA.....	14
2.9 SÍNTESIS DE LA LACTASA	15
2.9.1 LACTASA (EC 3.2.1.23).....	15

2.9.2 SÍNTESIS DE LACTASA-FLORICINA HIDROLASA.....	16
2.10 GEN DE LA LACTASA	18
2.10.1 REGULACIÓN DEL GEN LCT.....	19
2.11 DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DEL FENOTIPO DE NO PERSISTENCIA DE LA LACTASA	24
2.12 POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA PERSISTENCIA DE LA LACTASA EN EL MUNDO.	25
2.13 CONSUMO DE LÁCTEOS EN EL PERÚ.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 MATERIALES	31
3.1.1 MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	31
3.1.2 MATERIALES, REACTIVOS Y OTROS.	32
3.2 MÉTODOS.....	33
3.2.1 GENOTIPIFICACIÓN	33
3.2.1.2 Amplificación de ADN	33
3.2.1.3 Restricción	34
3.2.1.4 Secuenciamiento	35
3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	36
3.3.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	36
3.3.2 ESTADÍSTICA COMPARATIVA.....	36
IV. RESULTADOS	37
4.1 FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS.....	39
4.2 EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG.	41
4.3 ANÁLISIS DE DIFERENCIACIÓN GENÉTICA.....	42
4.4 ANÁLISIS CON OTRAS POBLACIONES DEL MUNDO.....	44
V. DISCUSIÓN.....	47
VI. CONCLUSIONES	56
VII. RECOMENDACIONES.....	57
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
IX. ANEXOS	65

RESUMEN

La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche, su malabsorción se debe a la no persistencia de la lactasa, causante de la intolerancia a la lactosa. La no persistencia de la lactasa es variable en las diferentes poblaciones del mundo, y esta condición se relaciona con la variante alélica C del SNP LCT -13910 ubicado en el gen MCM6 y que influye sobre la región promotora del gen de la lactasa. El objetivo de la investigación fue establecer la distribución de las frecuencias del polimorfismo -13910 C/T del gen LCT/MCM6 en diferentes subpoblaciones peruanas. El análisis se realizó con 173 muestras de ADN de las subpoblaciones de Lima (56.1 %), Huarochirí-Lima (13.3%), Puno (17.3%) y Calca-Cusco (13.3%). Se aplicó la metodología PCR-RFLP para evaluar el polimorfismo. Las frecuencias genotípicas en la muestra global fueron: C/C=97,7 % y C/T=2.3%. En las subpoblaciones los resultados fueron: Lima C/C=96.9 % y C/T= 3.31%; en Huarochirí-Lima y en Calca-Cusco el genotipo C/C fue el 100%, en Puno C/C=98.3% y C/T=1,7%. Las frecuencias genotípicas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg. En la muestra total, las frecuencias de los alelos fueron: C=98,8% y T=1,2%. Se encontró poca diferenciación genética (índice F_{st}). En general, no existen diferencias para el polimorfismo LCT/MCM6 -13910 C/T en las subpoblaciones peruanas estudiadas, encontrándose una alta frecuencia de la variante genética C, asociada a la no persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa.

Palabras clave: Gen lactasa/MCM6, lactosa, SNP -13910 C/T, alelo, genotipo, Perú.

ABSTRACT

Lactose is the main carbohydrate in milk, their malabsorption is due to the non-persistence of lactase enzyme, this deficiency or persistence can cause intolerance lactose. Non-persistence of lactase is variable in different populations around the world, this condition is related to the C allelic variant of LCT -13910 C/T polymorphism in the gene MCM6. The objective of the research was to establish the distribution of the frequencies of the polymorphism -13910 LCT/MCM6 gene in different Peruvians populations. The analysis was performed with 173 DNA samples from subpopulations of Lima (56.1%), Lima-Huarocharí (13.3%), Puno (17.3%) and Calca-Cusco (13.3%); the methodology consisted of genotyping by PCR- RFLP. The genotype frequencies in the overall sample were: C/C=98.8% and C/T=1.2%. In the subpopulations the results were: Lima, C/C=96.9% y C/T= 3.31%; Lima-Huarocharí and Cusco- Calca the C/C was 100%; Puno, C/C=98.3% and C/T=1.7%. Genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium, there was little genetic differentiation (Fst index). The allele frequencies, in the overall, were: C=98,8% and T=1,2%. In general, no differences for polymorphism LCT/MCM6 -13910 C/T in the peruvian subpopulations studied, with a high frequency of the genetic variant C, associated with lactase non-persistence and lactose intolerance.

Keywords: Lactase/MCM6 gene, lactose, SNP -13910 C/T, genotype, allele, Peru.

HIPÓTESIS

Existen diferencias entre las subpoblaciones peruanas respecto a la distribución del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 implicado en la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la distribución de las frecuencias de polimorfismo -13910 del gen LCT/MCM6, relacionado con la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa, en diferentes subpoblaciones peruanas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencias genotípicas (C/C, C/T y T/T) del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 en subpoblaciones peruanas.
- Determinar las frecuencias alélicas (C y T) del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 en subpoblaciones peruanas.
- Establecer diferencias o similitudes de los alelos C y T del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 de las subpoblaciones peruanas con otras poblaciones del mundo.

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo más de 6 000 millones de personas consumen leche y productos lácteos, la mayoría de ellas viven en los países en desarrollo¹.

En el Perú, el producto lácteo de mayor consumo en el mercado es la leche evaporada cuyo consumo *per cápita* es 10 litros con 500 ml litros al año o 900 ml al mes, el consumo es diferente por ámbito geográfico siendo el consumo en el área urbana 5 veces más que en el área rural; por región la costa tiene un consumo más alto que la sierra^{2,3}.

La lactosa, un disacárido, es el principal carbohidrato en la leche. Al consumir leche o sus derivados, la lactosa es hidrolizada por la lactasa en glucosa y galactosa los cuales son transportados a través de la mucosa del intestino delgado y fácilmente absorbidos^{4,5}.

La malabsorción de lactosa se debe a su digestión ineficiente, cuando el organismo no tiene suficiente lactasa para digerir la lactosa ingerida debido a la reducción de su expresión o el deterioro de su actividad, la cual se ve reducida luego del destete en mamíferos, esta deficiencia de lactasa puede producir dolor abdominal, diarrea, hinchazón, flatulencia y vómitos (intolerancia a la lactosa)^{6,7}.

Las personas cuya lactasa persiste en niveles elevados a lo largo de su vida adulta son lactasa persistente mientras que aquellos con poca segregación de lactasa en la

edad adulta son lactasa no persistentes (también referida como hipolactasia tipo adulto primaria)⁸. La persistencia de la lactasa (PL) es un rasgo heredado genéticamente que posee una distribución poblacional particular, desarrollándose de forma independiente en la evolución humana en el mundo⁹.

La PL está asociada con un rasgo polimórfico en el gen MCM6, el cual se encuentra aproximadamente a 13,9 kb contiguos al gen de la lactasa; éste polimorfismo es el -13910 C/T, que en interacción con factores de transcripción como el Oct-1, actúan como un enhancer (potenciador) del promotor del gen de la lactasa (LCT)⁹⁻¹¹.

En Europa, en los caucásicos, se relacionaron dos mutaciones en el gen MCM6 con la persistencia a la lactasa (-13910 C/T y -22018 G/A), siendo la variante -13910T identificada como patrón de la persistencia de la lactasa en Europa^{10, 11}. En España, en la población gallega, se encontró asociación entre el alelo -13910 C y la no persistencia de la lactasa (NPL)¹².

Estudios posteriores sugieren que otros alelos en la misma o próximos a la región potenciadora, están asociados con la persistencia de la lactasa en poblaciones de África del Este y en otros lugares de Oriente¹³. En el norte de China, el polimorfismo LCT -13910, no se asocia asociarse con la PL¹⁴; sin embargo, en Israel se sugirió que los polimorfismos encontrados varían entre etnias de judíos israelíes y beduinos árabes (-13910 C/T y -13915 G/A respectivamente)¹⁵.

En Latinoamérica, en el Caribe Colombiano, el análisis de los SNPs LCT -13910 C/T y -22018 G/A, mostró que las frecuencias alélicas y genotípicas difieren según el perfil étnico de los individuos, sin embargo, el diagnóstico molecular de persistencia de la lactasa es limitado en este grupo colombiano¹⁶.

En el Perú, en 1965, se observó por primera vez problemas de absorción de lactosa en niños y adultos en pruebas bioquímicas; estudios posteriores también reportan alta prevalencia en adultos normales¹⁷, sin embargo existe la necesidad de realizar los estudios genético moleculares en el gen de la lactasa/MCM6 que complementen y establezcan la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa y su distribución en las distintas subpoblaciones peruanas.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general establecer la distribución de las frecuencias de polimorfismo -13910 del gen LCT/MCM6, relacionado con la persistencia de la lactasa, en diferentes poblaciones peruanas, cuyos objetivos específicos son determinar las frecuencias genotípicas, las frecuencias alélicas y establecer diferencias o similitudes del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 con otras poblaciones del mundo.

La hipótesis planteada es que existen diferencias entre las subpoblaciones peruanas respecto a la distribución del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 implicado en la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa.

II. MARCO TEÓRICO

El consumo de leche de forma organizada, rutinaria y domesticada se inició hace 10.000 años en el Medio Oriente con la domesticación de ovejas, cabras y ganado; es probable que el consumo de leche y productos lácteos hayan proporcionado valiosos componentes nutricionales en la dieta de los agricultores; una vez que la cría de animales domésticos dejó de ser estacional, la leche habría proporcionado un suministro fiable de nutrientes a personas persistentes de lactasa, la protección contra la escasez de alimentos provocada por la estacionalidad de los cultivos^{18,19}.

Las personas en el Medio Oriente tienen una menor prevalencia de no persistencia a la lactasa, la correlación fenotípica observada de persistencia de la lactasa con la práctica cultural de ordeño, planteó la hipótesis que este rasgo ha sido objeto de una fuerte selección positiva, indicando que la persistencia de la lactasa surgió como respuesta a la innovación cultural del pastoreo del ganado vacuno asociado a la vida agrícola; así se trataron de explicar las diferencias en los patrones de prevalencia de hipolactasia en todo el mundo. Se ha sugerido que las personas con persistencia de la lactasa podrían sobrevivir mejor que los que no tienen esta condición, ya que podrían absorber todos los nutrientes adecuadamente, a partir de leche, sin tener síntomas^{18,19}.

En los Andes, antes de la conquista, la leche de llama aparentemente no fue utilizada por los pobladores andinos durante la época prehispánica ya que contaban con otras fuentes de calcio y minerales, y por una cuestión de respeto a los animales y a sus crías, sin embargo, se pudo dar un consumo restringido luego de

la conquista, como parte del proceso de transculturación –en este caso por imitación–, pero finalmente este nuevo hábito se fue perdiendo, hasta el punto que hoy solo se practicaría por razones de subsistencia³.

2.1 LACTOSA

La lactosa es el principal carbohidrato durante el período neonatal, nutriente clave y esencial en la leche de los mamíferos recién nacidos. Es sintetizada por lactosa sintetasa en la glándula mamaria de todos los mamíferos placentarios (excepto el león marino) durante la última etapa del embarazo y la lactancia¹⁹.

La lactosa es un disacárido compuesto de D-glucosa y D-galactosa unida por un enlace beta 1,4; es hidrolizada en sus monosacáridos, glucosa (GLU) y galactosa (GAL) por una enzima disacaridasa llamada lactasa –floricina hidrolaza (LPH) (Figura N°1), los monosacáridos son transportados y absorbidos rápidamente a través de la mucosa del intestino delgado ²⁰⁻²³.

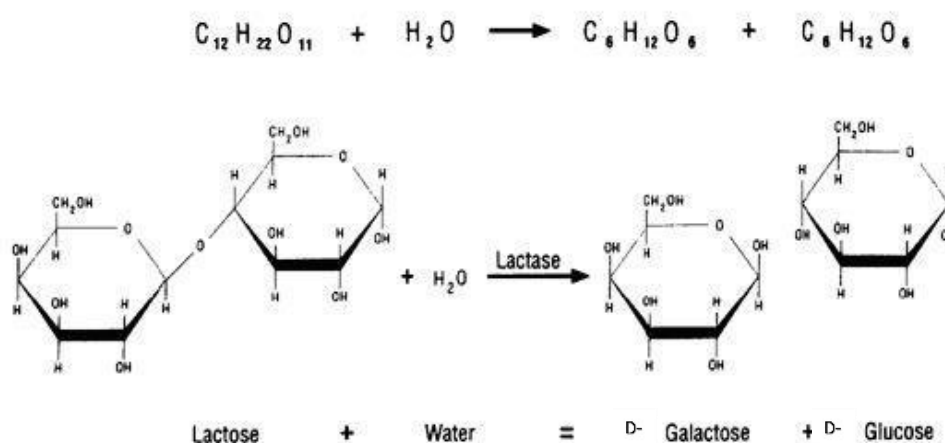


Figura N° 1. Hidrólisis de la lactosa. Tomado y modificado de Lomer MC et al (2008) ²⁴.

2.2 INTOLERANCIA A LA LACTOSA

La intolerancia a la lactosa es un síndrome clínico, indica la presencia de síntomas como dolor abdominal, diarrea y/o meteorismo asociados a la mala absorción de lactosa. Su diagnóstico requiere evaluación clínica y la objetivación de malabsorción de lactosa y/o no persistencia de la lactasa²⁴⁻²⁶.

2.3 MALABSORCIÓN DE LACTOSA.

La malabsorción de lactosa (ML) ocurre cuando una fracción de lactosa no metabolizada alcanza el colon donde es digerida por las bacterias endoluminales. Esta condición puede demostrarse mediante test de H₂ en aire espirado o glicemia post carga de lactosa oral.

La malabsorción de lactosa en el individuo no indica que el sujeto será sintomático; la probabilidad de que una persona con mala absorción de lactosa presente síntomas después de la ingestión de la lactosa depende de varios factores (la dosis de la lactosa, la actividad de lactasa en la mucosa, los alimentos que se co-ingieren con lactosa, las vías de fermentación de la lactosa de la flora colónica⁴, de hecho tan sólo entre un tercio y la mitad de los pacientes que tienen ML son también intolerantes⁵.

2.4 HIPOLACTASIA

El término hipolactasia se refiere a la disminución de la actividad de la enzima lactasa, puede ser una condición primaria o secundaria. Existen dos tipos de hipolactasia primaria (hipolactasia tipo adulto y la hipolactasia congénita).

2.4.1 DEFICIENCIA CONGÉNITA DE LACTASA.

La deficiencia congénita de lactasa (DCL) se asocia con la actividad de la enzima, se cree que es una enfermedad autosómica de rasgo recesivo, el síntoma distintivo es la diarrea acuosa que el recién nacido desarrolla poco después de las primeras dosis de la leche materna u otro compuesto con lactosa, causando retraso del crecimiento. La DCL es extremadamente rara, con sólo 40 casos reportados en la literatura. El único tratamiento es evitar el consumo de lactosa a lo largo de la vida²⁷.

2.4.2 LA HIPOLACTASIA SECUNDARIA.

La hipolactasia secundaria es producto de una enfermedad gastrointestinal relacionada con el daño o lesiones en las microvellosidades del intestino delgado, por ejemplo, enfermedades como la giardiasis, la enfermedad celíaca, gastroenteritis viral, la enfermedad de Crohn, y procesos como la radioterapia, quimioterapia e incluso la utilización de algunos medicamentos. Con el tratamiento adecuado de la enfermedad subyacente esta condición suele ser reversible²⁸.

2.4.3 HIPOLACTASIA TIPO ADULTO.

La actividad enzimática de la lactasa cambia durante el desarrollo, es máxima a finales del embarazo, luego del destete se da una reducción progresiva, disminuye en la niñez temprana (2-3 años) y alcanza un nivel bajo estable entre los 5-10 años hasta llegar en el adulto con solo 5-10% de actividad, constituyéndose así la hipolactasia tipo adulto (HPTA)^{9,16}.

La HPTA también es conocida como malabsorción de lactosa primaria o no persistencia de la lactasa (NPL), es la disminución de la actividad de

lactasa (deficiencia de lactasa) en las microvellosidades intestinales, por consiguiente las personas al consumir leche no pueden metabolizar la lactosa²⁶⁻²⁸.

La HPTA es la principal causa de la intolerancia a la lactosa, es el fenotipo más común que se encuentra en los humanos, no obstante, el 20-25% de la población mundial mantiene a lo largo de su vida la capacidad de producir la enzima lactasa, ello ocurre principalmente en las personas de ascendencia caucásica del norte de Europa y se relaciona geográficamente con la introducción de la ganadería lechera^{9,16,18,24}.

2.5 MECANISMO DE LA INTOLERANCIA A LA LACTOSA

La lactosa se hidroliza en galactosa (Gal) y glucosa (Glu) en el borde de las microvellosidades de los enterocitos del intestino delgado y son transportados hacia el torrente sanguíneo (Figura N° 2).

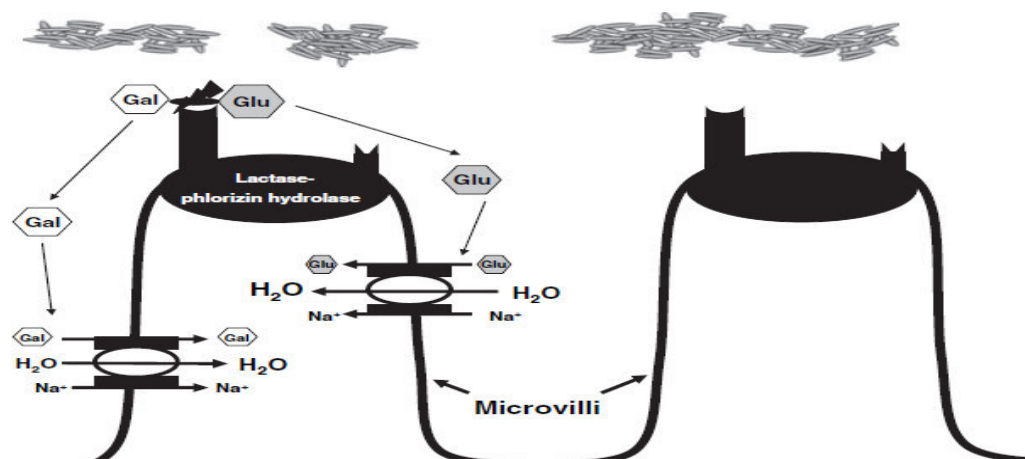


Figura N° 2 Metabolismo de la lactosa en las microvellosidades de los enterocitos del intestino delgado. Tomado de Bulhões *et al* (2007)²³. La hidrólisis ocurre en el yeyuno, donde la lactosa es poco fermentada debido a las bajas concentraciones de bacterias. Luego de hidrolizar la lactosa, la glucosa se usa como una fuente de energía y la galactosa se convierte en un componente de glicolípidos y glicoproteínas^{21, 22,24}.

El tracto gastrointestinal alberga por lo menos 17 familias bacterianas, clasificándose más de 500 especies con mayor concentración en el colon. La actividad de la lactasa es óptima en el intestino delgado a un pH 6-8, sin embargo en el colon el pH cae hasta un mínimo de 4,64 disminuyendo la actividad de la lactasa, siendo probable que se deje de fermentar la lactosa²¹.

En la NPL, aumentan los niveles de lactosa, ésta no es absorbida y pasa a través de la pared del colon generando una alta carga osmótica, la cual conduce a un aumento de electrolitos y agua en el lumen intestinal, acidificando el colon, acelerando el tránsito, suavizando las heces y produciendo diarrea^{4, 5,29}.

Asimismo, con bajas cantidades de lactosa en el colon, ésta puede fermentarse y absorberse rápidamente en sus metabolitos sin producir diarrea. Los factores que influyen en la susceptibilidad de las personas para desarrollar diarrea tras la mala absorción de la lactosa son las diferencias en el metabolismo fecal, la función de la mucosa y el tiempo de tránsito en el colon⁴.

La lactosa también puede ser fermentada, mediante la b-galactosidasa, por bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Leuconostoc sp.* y *Pediococcus sp.*, produciendo ácidos grasos de cadena corta y subproductos gaseosos (incluido el hidrógeno, dióxido de carbono y metano) causando hinchazón en el intestino delgado y flatulencia en el colon²⁵.

Las bacterias metanogénicas utilizan hidrógeno preformado y dióxido de carbono para sintetizar metano. El dióxido de carbono restante es absorbido a

través de la mucosa intestinal; el hidrogeno y metano también son absorbidos, aunque a un ritmo más lento⁴ (figura N° 3).

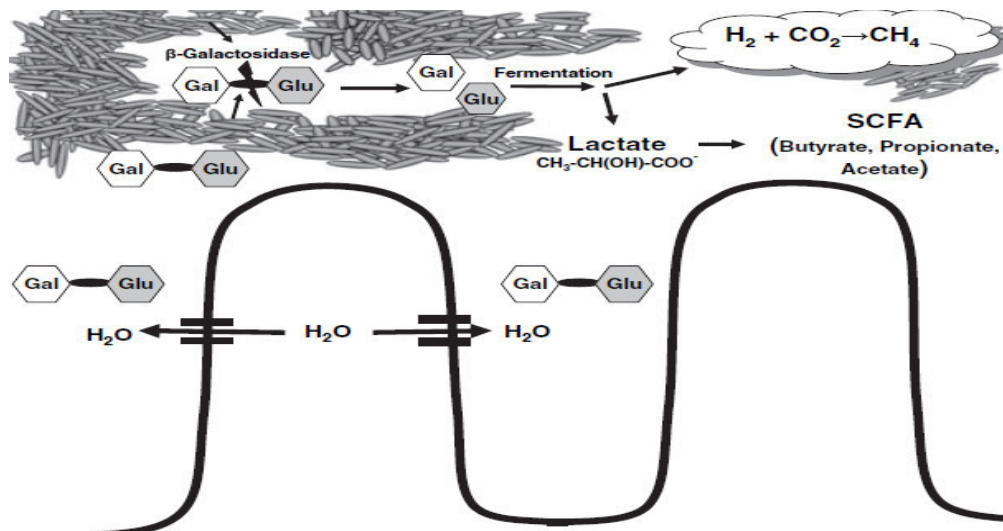


Figura N°3. Mecanismo de la no persistencia de la lactasa. Tomado de Bulhões *et al* (2007)²³.

A pesar de este mecanismo, la mayoría de personas intolerantes a la lactosa todavía pueden tolerar pequeñas cantidades de lactosa (como con el té o café), y algunos incluso puede consumir mayores cantidades sin experimentar algún síntoma clínico negativo. Sólo alrededor del 50% de la actividad de la lactasa es necesaria para metabolizar eficazmente la lactosa¹⁹.

2.6 INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y SU RELACIÓN CON OTROS SINDROMES

El paciente con intolerancia a la lactosa puede tener deficiencia de calcio a largo plazo debido a una inadecuada ingesta de leche y productos lácteos, aumentando el riesgo de la osteoporosis y las fracturas en estos pacientes ^{4, 23}. Asimismo, se sugiere que la intolerancia a la lactosa predispone a mujeres perimenopáusicas a una ligera disminución de la densidad ósea, posiblemente por la disminución de ingesta de calcio, por ello a los pacientes con intolerancia a la

lactosa se les debe realizar un seguimiento de los niveles de calcio y la vitamina D con regularidad^{30, 31}.

Se ha asociado el alelo C del SNP -13910 del gen MCM6 a una mayor prevalencia de la glucemia en ayunas y/o diabetes tipo 2 en diferentes poblaciones. También se ha demostrado que está asociado con un mayor Índice de masa corporal, sobre todo en aquellos que consumen altas cantidades de productos lácteos en poblaciones europeas y mediterráneas^{32, 33}. No se ha encontrado ninguna asociación entre el genotipo -13910 C/C (baja actividad lactásica) y la densidad mineral ósea y fracturas en hombres jóvenes. Sin embargo, se ha demostrado una asociación entre el genotipo -13910 C/C y la densidad mineral ósea reducida en las mujeres postmenopáusicas por un lado y también con las incidencias de las fracturas en la gente muy mayor (>85 años). Varios autores han descrito la asociación entre los genotipos de lactasa en el desarrollo de la osteoporosis, la catarata, diabetes tipo 1 y 2 y cánceres de colon y ováricos, sin embargo, la asociación entre la persistencia/no persistencia de la lactasa es controvertida o totalmente desconocida¹⁶.

2.7 PRUEBAS DE DETECCIÓN DE MALABSORCIÓN DE LACTOSA

Se han empleado varias pruebas para evaluar la capacidad de la absorción de la lactosa en personas, se infiere mediante la evaluación de la digestión de lactosa en la persona.

2.7.1 PRUEBA DE TOLERANCIA A LA LACTOSA

Es una prueba básica que no requiere una infraestructura compleja y es considerada económica⁵.

Esta prueba consiste en realizar mediciones del aumento de la glucosa sanguínea después de la ingestión de una dosis de 50 gramos de lactosa

en diferentes periodos (basal, 30, 60 y 120 minutos) ^{4,5}. La malabsorción de lactosa se infiere en un aumento de la glucemia $<20 \text{ mg\%}$ ^{19,30}. Entre las limitaciones están los síntomas que puede experimentar el paciente (dolor, diarrea, flatulencia, vómitos), su carácter relativamente invasivo (extracción de múltiples pruebas de sangre), así como el tiempo prolongado del examen (120 minutos) ^{12, 31}.

2.7.2 TEST DE HIDRÓGENO ESPIRADO.

La prueba de aliento de hidrogeno (H_2) o test de hidrógeno espirado (THE) se usa para determinar la capacidad de la absorción de lactosa en personas (determina la malabsorción de lactosa), ya que evalúa la concentración del H_2 en el aliento después de la ingestión de una dosis de 50 gramos de lactosa luego de ayunar toda la noche. Un aumento en la espiración de hidrógeno o metano indica mala digestión (20 y 12 ppm) esto refleja fermentación colónica, por tanto la no absorción de lactosa ^{4,8,19}.

Se han empleado varias dosis de lactosa en este método y su exactitud aún no se determina con precisión. Esta prueba no es invasiva y ha sido ampliamente empleada para determinar la prevalencia de malabsorción de lactosa en diversas poblaciones, posee una sensibilidad de 77,5 % y una especificidad de 97,6 % ^{4, 5}.

La limitación de esta prueba va a depender de la presencia de bacterias productoras de hidrógeno en el colon. Del 2 a 20% de las personas tienden a no producir hidrógeno en la flora del colon ³¹. Ambos métodos (tolerancia a la lactosa y espiración de hidrogeno), no permiten distinguir de la hipolactasia primaria de la hipolactasia secundaria ³⁴.

2.7.3 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE BIOPSIA YEYUNAL.

La biopsia del intestino delgado es el único procedimiento de diagnóstico que permite la medición directa de la actividad de lactasa. Sin embargo, debido a la naturaleza invasiva apenas es aceptada por pacientes a menos que tengan que someterse a endoscopia digestiva por otras razones^{19,31}.

Se ha estudiado la prevalencia con este método, estimándose la prevalencia de la NPL entre un 6 % a 34 % entre los caucásicos, y el 75% en otros grupos; sin embargo, hubo poca o ninguna correlación con los síntomas de la intolerancia a la lactosa, por ello es difícil generalizar estos resultados para crear las estimaciones de población o entender su relevancia clínica⁴.

2.7.4 PRUEBA DE GAXILOSA

Gaxilosa, un análogo de la lactosa, se hidroliza por la lactasa intestinal en D-galactosa y D-xilosa; ésta se administra a una dosis única de 0,45 g de gaxilosa después de un ayuno durante la noche, luego de 4-5 h de su ingesta se hacen pruebas en orina y en sangre mediante métodos colorimétricos. El aumento en la medición de la excreción urinaria de D-xilosa en las primeras 4 horas expresan la persistencia de lactasa, con niveles de 27,58 y 37,87 mg de D- xilosa para las pruebas de orina y de 0,97 mg/dl para D-xilosa en suero. Esta prueba presentó buena sensibilidad, especificidad y valores predictivos por encima de 90%^{34,35}.

2.7.5 PRUEBA DE pH FECAL

La fermentación de la lactosa no digerida crea ácido láctico y otros ácidos que causan la disminución del pH en las heces (hasta 6 o menos), esto se determina mediante un cambio de color y sugiere una deficiencia de la producción de lactasa³¹.

Existen otros métodos poco utilizados como la prueba de tolerancia a la lactosa con etanol, y los métodos de medicina nuclear, que emplean el carbono marcado (prueba de aliento con C13 o C14)³⁴.

2.7.6 ASOCIACIÓN CON LA PRUEBA GENÉTICA.

Existe una relación entre la predisposición genética para hipolactasia con las frecuencias genotípicas del SNPT LCT -13910C/T en poblaciones del norte de Europa y caucásicos⁴. Por ello, se realiza el genotipaje de la región promotora del gen LCT de los SNPs C/T-13910 y G/A-22018 en esas regiones. Una de las limitaciones es que existen poblaciones donde el genotipo no es compatible con la hipolactasia, existiendo estudios en África que involucrando a otros SNPs con la HPTA.

2.8 TRATAMIENTO PARA LA HIPOLACTASIA.

El tratamiento para reducir la NPL, es decir, hipolactasia, consiste en una dieta restringida en lactosa o el uso de suplementos de lactasa. El primero implica evitar lácteos con lactosa o usar productos deslactosados, también se usan los suplementos de lactasa tomadas al momento de la ingestión de la leche.

También se ingieren alimentos con probióticos como el yogurt (tales como *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, y *Saccharomyces sp.*), para prevenir y tratar la intolerancia a la lactosa ya que tienen beta-galactosidasa o lactasa intracelularmente, ayudando a la digestión de la lactosa, disminuyendo los síntomas de la NPL; se ha calculado que la fermentación disminuye el contenido de lactosa cerca de aproximadamente 25-50%, asimismo se recomienda la alimentación de quesos naturales como el cheddar o suizo, ya que estos son naturalmente bajos en lactosa^{12,36}.

Existen otras alternativas como medio de satisfacer los requerimientos de calcio, aunque no reemplacen a todos los nutrientes de la leche. Según un estudio, una porción de calcio equivalente de la leche requiere 1.1 porciones de bebida de soya fortificada, 0.6 raciones de jugo de naranja fortificado, 1.2 porciones de pescado o 2.2 porciones de verduras de hoja verde. La sustitución de los productos lácteos con estos alimentos altera el perfil nutricional general de la dieta, pudiendo ser afectada la ingesta de otros nutrientes esenciales, como proteínas, potasio, riboflavina y vitamina B12. Debido a que los productos lácteos son la principal fuente de ingesta de calcio en la dieta (en ausencia de suplementación), las recomendaciones dietéticas sugieren su consumo³⁷.

2.9 SÍNTESIS DE LA LACTASA

2.9.1 LACTASA (EC 3.2.1.23)

La Lactasa-floricina hidrolasa (LPH), está presente en la superficie apical de los enterocitos, en el borde pequeño de las microvellosidades del intestino, su expresión más alta se encuentra en el yeyuno medio y el íleon proximal. Es una enzima multifuncional ya que participa en la hidrólisis de la lactosa además de otros sustratos como la lactosilceramina, la celobiosa y la cetroliosa^{12, 25}. La lactasa posee un precursor péptidico de 215 kDa (Pro LPH), que sufre modificaciones post-transcripcionales donde cambia a una proteína madura de 150-160 kDa. La tripsina pancreática la convierte en su forma activa³⁰.

La enzima madura tiene dos sitios activos, la β -D-galactosidasa, responsable de la hidrólisis de la lactosa, y la floricina hidrolasa, una β -glucosidasa que hidroliza la florizina (un polifenol vegetal-flavonoide) que se encuentra en las raíces y cortezas de plantas de la familia Rosaceae (perales, manzanos, algunas algas y otros glicósidos vegetales), ambas

actividades catalíticas son producidas por una sola cadena polipeptídica³³.

2.9.2 SÍNTESIS DE LACTASA-FLORICINA HIDROLASA

El producto de la traducción del gen de la lactasa es una pre-pro-LPH, que debido a una señal peptídica se transforma por clivaje en una pro-LPH en el retículo endoplasmático y luego transportada a lo largo de la vía secretora. La proteína se sintetiza como una molécula monomérica con un peso molecular de 215 kDa (pro-LPH) (figura N° 4). Hay cinco (I-V) regiones estructurales conservadas y funcionales en el polipéptido pro-LPH de los cuales se suprimen dos (I-II) a través de escisiones proteolíticas de la molécula LPH final³⁴.

La Pro-LPH Consiste en cinco dominios: una secuencia N-terminal (19 aminoácidos), un fragmento de LPH α (849 aminoácidos), un dominio extracelular (1104 aminoácidos), LPH β final, un dominio de anclaje hidrofobo trans-membrana (19 aminoácidos), y dominio citosólico corto C-terminal de 26 aminoácidos^{38, 39}.

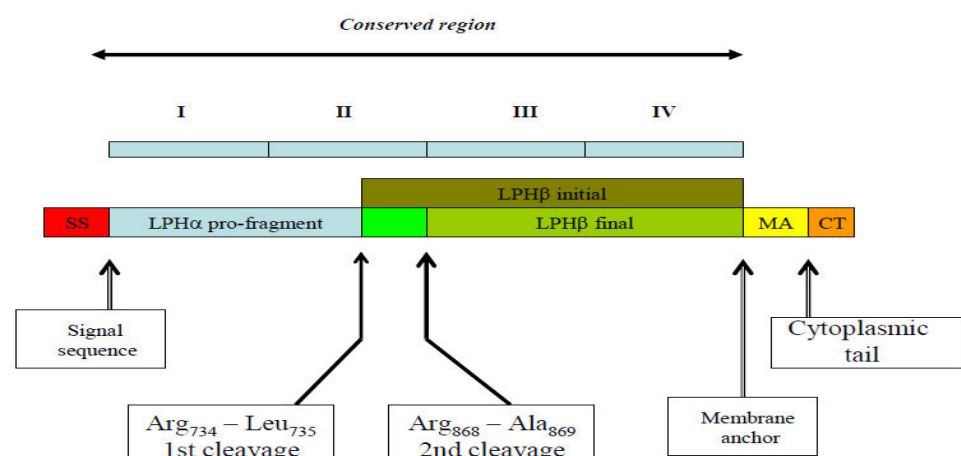


Figura 4. Estructura de la proteína pro-LPH. Tomado de Enattah NS *et al* (2005)⁴⁰.

Este proceso está influenciado por numerosos factores, tales como la edad, el grado de diferenciación de las células a lo largo de la vellosidad, glicosilación y la vida útil de los enterocitos. La glicosilación del polipéptido es aparentemente similar a otras disacaridasas³⁹, siendo las principales etapas:

En la Pro-LPH, la primera modificación post traduccional es la glicosilación en el retículo endoplasmático por manosa ligada a N-oligosacáridos(Figura N° 5-A), la secuencia primaria de LPH consta de 15 sitios de N-glicosilación³⁸, es O-glicosilada en las serinas y treonina, así como N-glicosilada en la asparagina³⁹, se da la formación de homodímeros de dos moléculas pro-LPH, mediada por sus dominios transmembrana³⁸ (Figura N° 5-B) que luego formarán un dímero que se transfiere al aparato de Golgi^{36,37}.

En el aparato de Golgi, la pro-LPH es O-glicosilada, generando una proteína pro-LPH de 230-Kd, la N- y O-glicosilación son muy importantes para el plegamiento correcto, el transporte, así como la actividad enzimática de la proteína³⁸. Una etapa de escisión se produce en la red trans-Golgi que conduce a la formación de LPH β inicial (dominios I y II), que son conocidos en conjunto como el pro fragmento LPH α ; se cliva en la posición Arg734 / Leu735 (Figura N° 5-C) ³⁸. La LPH α , debido a su alto contenido de aminoácidos hidrófobos, constituye una estructura compacta, rígida y resistente a la tripsina, pudiendo enmascarar los sitios potenciales de N-glicosilación después de la traducción⁴⁰.

La LPH β inicial se extiende desde la posición 735(Leu) a 1927(Tyr) (Figura N° 4) y se encuentra en la membrana apical. La escisión final se produce en la superficie celular por la tripsina pancreática en la posición

868(Arg) / 869(Ala) la LPH β final es una proteína madura de 160 kDa⁴⁰ (Figura N° 5-D).

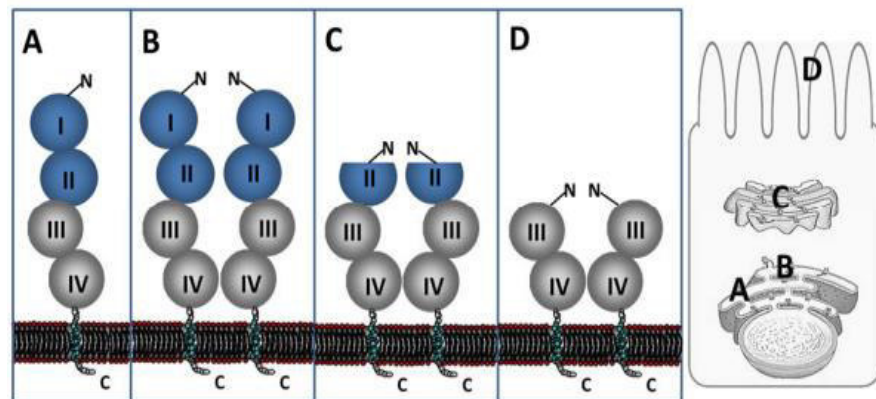


Figura N° 5. Biosíntesis de la proteína lactasa. Tomado de Amiri M. *et al* (2015)³⁸.

La pro-LPH es N-glicosilada (A), formándose homodímeros (B), se transporta al complejo de Golgi donde es O-glicosilada (C) luego es escindido (D) por la tripsina generándose la LPH madura y transportada a las microvellosidades de la membrana⁴⁰.

Para lograr la hidrólisis de la lactosa, la LPH madura es transportada a la superficie luminal de las células epiteliales de los enterocitos que aparentemente es mediada por el anclaje de glicofosfatidil inositol, que se asocia en la red trans-Golgi con microdominios de membrana enriquecidos con glucoesfingolípidos y colesterol³⁸. En la LPH madura (LPH B final), el sitio activo responsable de la hidrólisis de glucósidos tales como florizina, está en la posición 1273Glu del dominio III, mientras que en la posición 1749Glu (Figura N° 4) del dominio IV, se da la hidrólisis de galactósidos tales como lactosa⁴⁰.

2.10 GEN DE LA LACTASA

La lactasa (rs4988235) es codificada por un único gen (LCT) de ≈ 50 kb situado en el cromosoma 2q21, incluyendo 49340 pares de bases con 17 exones⁴¹.

Para la síntesis de PRO-LPH preformada, el ADN de doble cadena del gen se transcribe en ARN monocatenario. La transcripción primaria se procesa durante y después de su síntesis (por ejemplo, corte y empalme) para llegar a la forma madura (ARN mensajero, ARNm) y se transporta fuera del núcleo, las moléculas de ARNm son la matriz para la traducción a proteínas en los ribosomas en el plasma celular (Figura N°6). Después de la transcripción y empalme, el ARNm contiene 6274 bases y codifica un polipéptido con 1927 de residuos de aminoácidos (PRO LPH) ⁴².

La persistencia de lactasa en Finlandia y en el norte de Europa se ha asociado a dos polimorfismos de una sola base (SNPs), estos son: -13910 C/T y -22018 G/A cuyas sustituciones ocurren en el gen MCM6 contiguo o vecino al gen de la lactasa a 14 y 22 kb respectivamente^{16,19}. Sin embargo, el mecanismo del declive de la lactasa después del destete, es aún incierto³².

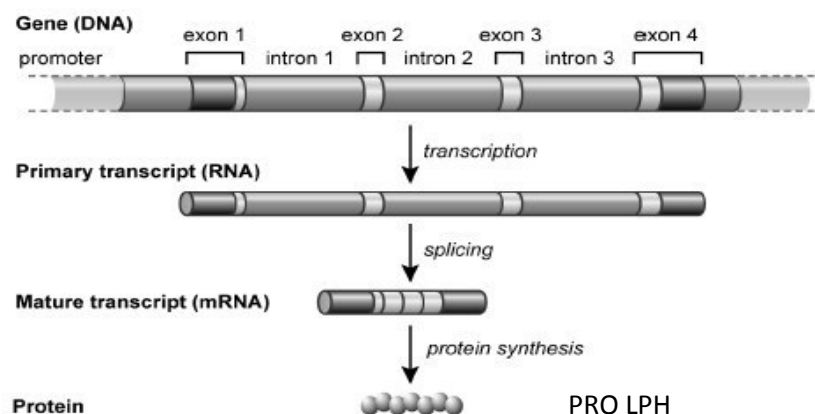


Figura N° 6. Ruta del gen hasta la proteína PRO LPH. Tomado y modificado de Leibert A. (2012) ⁴¹.

2.10.1 REGULACIÓN DEL GEN LCT.

Después del destete la actividad de la lactasa desciende gradualmente desde el yeyuno medio hasta el nivel más bajo en el yeyuno distal, el declive post destete de la lactasa se estudió en las ratas, se detectó que

en el día 20 después de la gestación-nacimiento, la proteína de la lactasa está presente en todas las secciones del intestino delgado¹².

Se considera que tanto la desensibilización del LPH en el hombre, como el período de declive postdestete en los animales, están regulados principalmente a nivel transcripcional, como una correlación entre el nivel estable del ARNm de la lactasa y la actividad de la lactasa, que existe en la mayoría de los humanos y animales, aunque hay algunos estudios que sugieren que podrían estar implicados mecanismos post-transcripcionales²⁴.

En este declive se han implicado diferentes alteraciones en las vías moleculares de la producción de LPH: una reducción del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) responsable de la síntesis de la LPH (LPH-ARNm), o bien, en la síntesis de proteína precursora de la LPH (alteración en la transcripción), un enlentecimiento en la producción de LPH (alteración en la traducción) y una disminución del número de enterocitos fabricantes (alteración en la maduración)²² (figura N° 7).

En muestras de mucosa intestinal estudiadas, la LPH-ARNm se correlaciona con los valores de actividad de lactasa; no obstante, en un cierto número de sujetos se han evidenciado valores elevados de LPH-ARNm y valores bajos de actividad, muestras tomadas de un mismo intestino y de una misma vellosidad pueden diferenciarse en los valores de lactasa y de LPH-ARNm; estas heterogeneidades podrían conllevar la teoría de que en un grupo se ve afectada la transcripción y en otros la traducción o incluso la maduración²⁴.

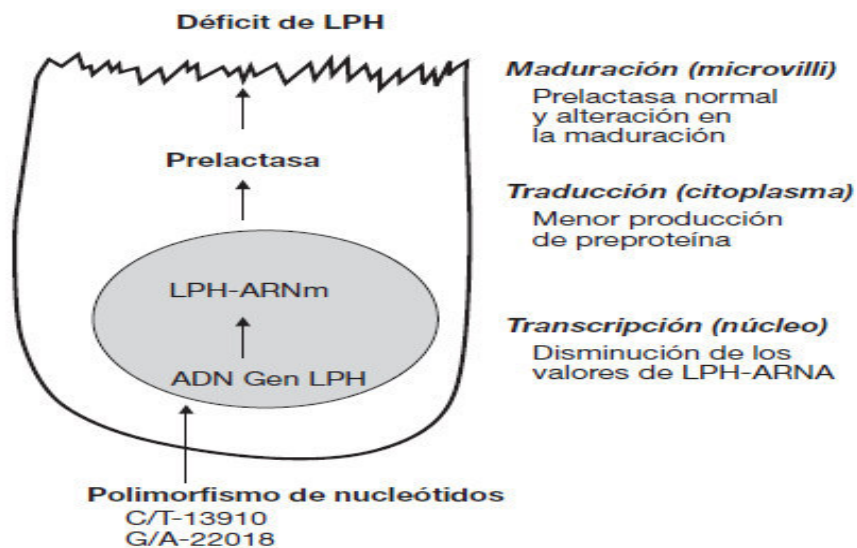


Figura N° 7. Secuencias que pueden estar implicadas en la hipolactasia genética, LPH: lactasa floridina hidrolasa. Tomado de Infante (2008)²².

En la actualidad, no está claro si los polimorfismos juegan un papel importante en expresión de la lactasa o simplemente proporcionan marcadores de un elemento regulador, aún queda por aclarar el mecanismo molecular que induce a la HPTA, sin embargo se explicarán los posibles factores que intervienen en su regulación ^{8,18}.

La persistencia de la lactasa está asociada con un rasgo polimórfico, el cual se encuentra aproximadamente a 13,9 kb contiguo al gen de la lactasa, en el intrón 13 del gen vecino MCM6, éste rasgo está vinculado a varios polimorfismos siendo el más frecuente la variante C/T en la posición -13910 ^{10, 18,43}.

La expresión del gen LPH está regulado por múltiples factores de transcripción OCT-1 y GATA-4,5,6, HNF4A, Fox / HNF3A , CDX-2 ,HNF1α, HOX11y, FREACs, quienes influyen en la disminución de la

enzima LPH después de la infancia, éstos interactúan sobre el promotor del gen LCT^{18, 39, 44}.

Un factor de transcripción particular; Oct-1 al interactuar con el SNP C/T - 13910 actúa como un “enhancer” o potenciador sobre el promotor del gen LCT¹², uniéndose con más afinidad al alelo T que al alelo C; ésta reacción se potencia cuando se coexpresa con HNF1a proporcionando un posible mecanismo de regulación de la LCT^{18, 19} (Figura N°8).

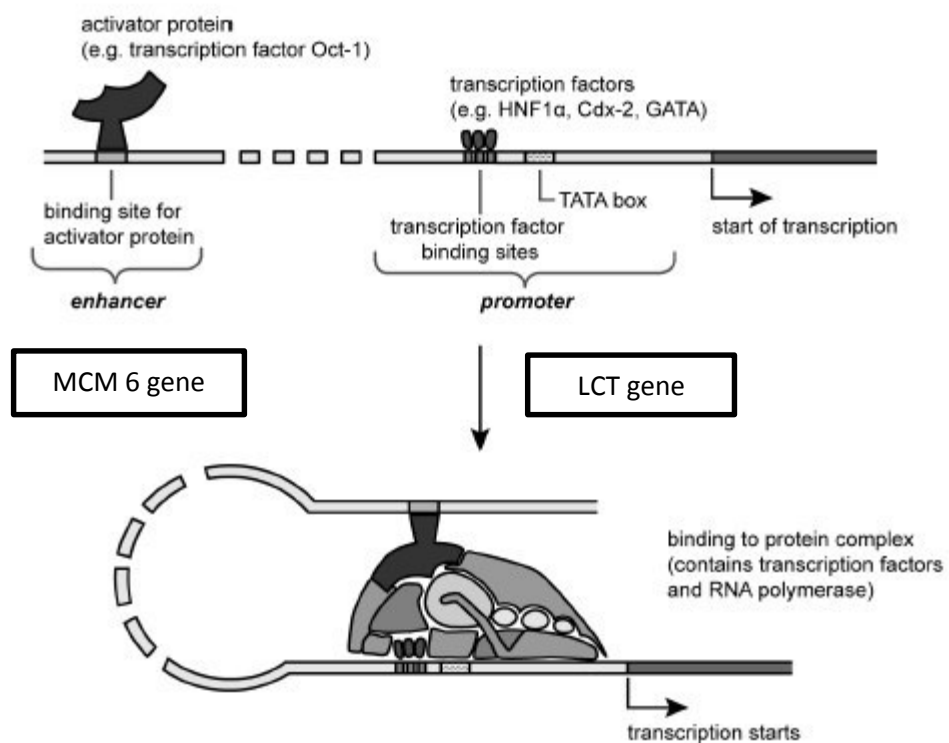


Figura N° 8. Formación de ADN: elementos de potenciador y promotor como parte de un complejo de proteína que inician la transcripción. Modificado de Leibert *et al* (2012)⁴¹.

En África, hasta ahora se han identificado 5 alelos diferentes: LCT - 13913 T/C, LCT -14010 G/C, LCT -13915 T/G y LCT -13907 C/G que al igual que el SNP -13910 C/T (Figura N° 9), están dentro de una secuencia 14000 pb contiguos al gen LCT, los cuales pueden afectar la

función del promotor del gen LCT, evidenciando que el rasgo de la persistencia de lactasa ha surgido varias veces de forma independiente según la región geográfica⁴³. Los alelos -13915G y -14010C están asociados con la persistencia de lactasa en diferentes partes de África Oriental, el alelo -13915G, también se asocia con una alta expresión de lactasa en Arabia Saudí^{13,18}.

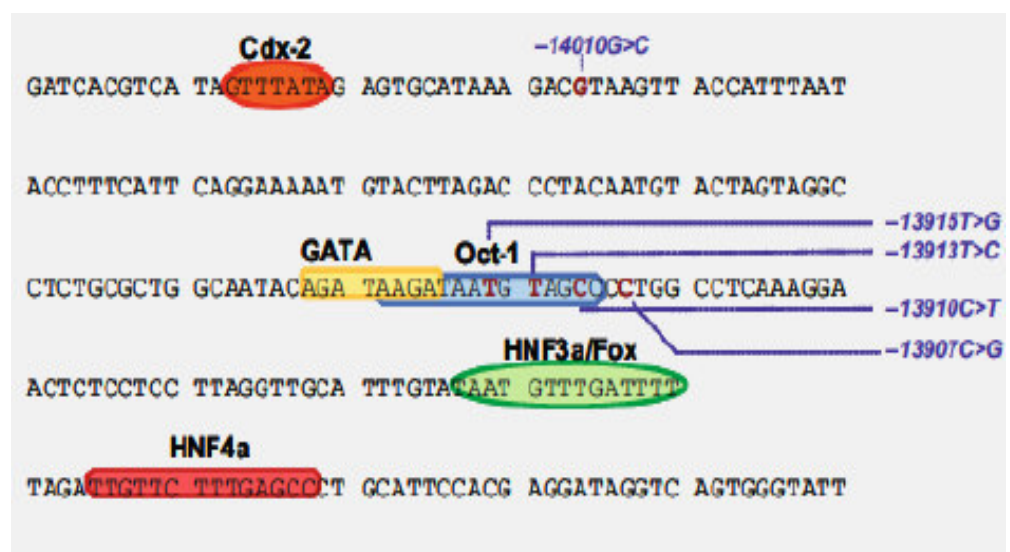


Figura N° 9. Sitios de ligación en sus respectivos factores de transcripción presentes en la región 14 kb del gene LCT, los polimorfismos que influyen en la regulación de la expresión del gen de la lactasa. Tomado de Friedrich *et al.* (2013)⁴⁴.

2.11 DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DEL FENOTIPO DE NO PERSISTENCIA DE LA LACTASA

El fenotipo de la HPTA es heredable como rasgo autosómico recesivo, se expresa en la mayoría de humanos (75%); su frecuencia varía según la etnia y la ubicación de la población, con baja prevalencia en los países del Norte de Europa (< 5 %), comparado con los del Sur de Europa (70-80 %) y Sudeste Asiático (cerca al 100 %), aumentando desde el sur y este de Europa, alcanzando el 70% en el sur de Italia y Turquía^{5,16}. La mayoría de los europeos son capaces de digerir grandes cantidades de lactosa durante toda su vida y se sabe que son lactasa persistentes¹⁹ (Figura N° 10).

En África, la distribución es irregular en algunas tribus nómadas de pastores, los beduinos y las poblaciones vecinas en el Medio Oriente²⁵. La prevalencia de hipolactasia en poblaciones como en México es 66-74%, en Chinos Han es 86-92%, en indios americanos de 62-100%¹². La PL se presenta en la India (donde decrece de noroeste a sureste), en Asia central y en el Oeste Sahel africano entre los nómades Fulani⁴⁵.

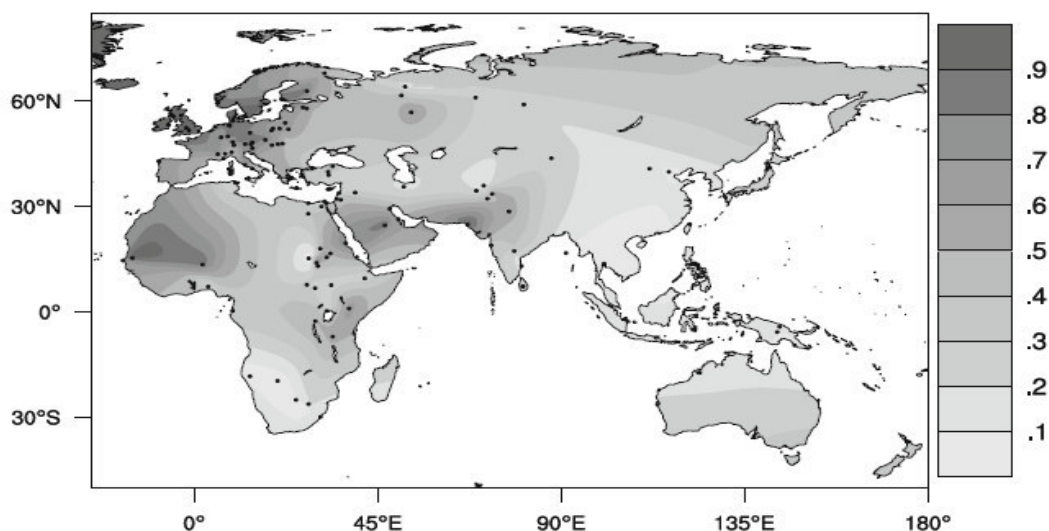


Figura N°10. Mapa que representa una distribución de la persistencia de la lactasa, preparado a partir de datos fenotípicos. Tomado de Ingram *et al* (2009)¹⁸.

2.12 POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA PERSISTENCIA DE LA LACTASA EN EL MUNDO.

Se ha demostrado que los polimorfismos genéticos que se asocian fuertemente con la PL en las poblaciones del norte de Europa, se han generado por presión selectiva reciente. Se estima que esta selección ocurrió hace 5000-10000 años, lo cual es compatible con el establecimiento de la agricultura y la producción de lácteos, sugiriéndose que el SNP -13910 C/T tuvo su origen entre el centro de Europa y los Balcanes, y que posteriormente se extendió hacia el norte¹².

El alelo -13910T, asociado a la PL, se presenta principalmente en poblaciones del norte y centro de Europa, la NPL es propio de poblaciones del África Sub-Sahariana, de la península Arábiga y de Sudán. Mientras tanto, estudios realizados en brasileños de origen japonés y en hindúes, revelan alta frecuencia del SNP -22018 G/A sugiriendo una mejor capacidad de predicción de PL/HPTA de este SNP, en comparación con el SNP -13910 C/T¹⁶.

En África se tiene varios SNPs relacionados a la PL, así como una compleja historia poblacional, la PL se asocia con al menos tres variantes nativas que se han originado de manera independiente (-13907G, -14009G y -14010C), también, en menor proporción, se asocian a los alelos propios de Europa (-13910T y -13915G), los cuales deben haber sido introducidos a la zona de manera similar como lo hicieron los marcadores uniparentales (ADNmt y cromosoma Y) en Eurasia⁴⁵.

En Arabia, surgieron en paralelo, los SNPs -13910 C/T y -13915 G/A relacionados a la alta frecuencia de PL, resultando de una posible adaptación al consumo de leche de camello⁴⁵.

En Asia, algunas poblaciones nómadas de China presentan la frecuencia de PL mayor que el de poblaciones no nómadas, así mismo, la frecuencia del alelo -13910T es extremadamente baja en la población de Han; ello, no coincide con la frecuencia fenotípica de PL y se sugiere que el alelo -13910T no es un predictor adecuado para diagnosticar la tolerancia a la lactosa en estas poblaciones¹⁴.

En Israel, un país multiétnico, se encontró alta prevalencia de deficiencia primaria de lactasa y su variación entre etnias, sugiriendo que en la población israelí el procedimiento preferido de genotipado para determinar deficiencia primaria de lactasa son los SNPs -13910 C/T y -22018 G/A en judíos, y el alelo -13915 G en los árabes beduinos¹⁵.

En España, Galicia, se asociaron los genotipos G/G y C/C con la malabsorción de la lactosa, en el caso del polimorfismo -13910 C/T los valores de los parámetros de validez de la prueba genética posee una sensibilidad del 100%, especificidad del 75,51%, un valor predictivo positivo del 87,62%, un valor predictivo negativo del 100% y valor global de la prueba de 91,04%, sugiriendo que los dos SNPs (-13910 C/T y -22018 G/A) están relacionados con los fenotipos de persistencia/no persistencia de la lactasa, por lo que se sugiere utilizar esta prueba para el diagnóstico de la hipolactasia de tipo adulto en la población gallega¹².

La situación en Latinoamérica es diferente, en Brasil, Bulhøes ACS. *et al* (2006), encontró relación significativa en la presencia de mutaciones -13910 C/T y -22018 G/A con la absorción de la lactosa (mediante test de hidrógeno expirado) en 20 individuos de Porto Alegre, siendo el 50% C/C, el 35% C/T y el 15 % T/T⁴⁷. Así mismo, otros estudio demostró relación entre la ocurrencia de SNPs -22018 G/A y -13910 C/T y la malabsorción de la lactosa (diagnosticada por THE) ²³.

Otros estudios en Brasil, también han demostrado relación significativa entre la ocurrencia de los SNPs -22018 G/A y -13910 C/T, y la malabsorción de la lactosa, el alelo -13910 T relacionado con la PL, se encuentra en alrededor del 43% de caucásicos y en el 20% de afrodescendientes, pero estuvo ausente entre los brasileños de origen japonés, sugiriendo que las pruebas genéticas que incluyen genotipado de los SNPs -13910 C/T y -22018 G/A son suficientes para el diagnóstico de HPTA en personas de origen caucásico, y que se necesitan más estudios en grupos afro descendientes^{34, 44}.

En Colombia, específicamente en la región del Caribe, las frecuencias alélicas y genotípicas difieren según el perfil étnico y se ha sugerido que la posibilidad de diagnóstico molecular es limitado para la LP/HPTA, en base a los SNPs europeos -13910 C/T y -22018 G/A¹⁶.

En Chile, 2011, se estimaron las frecuencias en la población de la Isla de Pascua y se evaluó su relación con la ancestría, hábitos alimentarios y manifestación de síntomas en 139 individuos; se obtuvo para la población general un 78% de intolerancia y un 22% de tolerancia a la lactosa, donde el 78% poseían el genotipo C/C, el 21% el C/T y el 1% el T/T del polimorfismo -13910 C/T⁴⁹. En el 2012, se realizó un estudio comparando el THE con el test

genético considerando los SNPs -13910 C/T, -13907 C/G y -22018 G/A, y un cuestionario de síntomas en 58 individuos. El genotipo C/C fue del 52%, C/T el 27,6% y T/T el 20,7% para el SNP -13910 C/T, confirmándose que la alta frecuencia de NPL en esta muestra se asocia al polimorfismo -13910 C/T con un alto rendimiento diagnóstico del test genético, comparable o superior al test espiratorio²⁶. En el 2013, se relacionó el consumo de lácteos con las frecuencias genotípicas en poblaciones de la Araucanía, observándose una frecuencia de NPL de 74%. Estas frecuencias se hacen significativamente mayores al considerar exclusivamente a la población autodefinida como Mapuche, en donde la prevalencia de esta condición alcanza al 90% de la población⁵⁰.

En Chile, 2014, se evaluó la malabsorción de lactosa mediante la prueba de aliento de hidrógeno (THE), se analizó el SNP -13910 C/T en 121 voluntarios y se realizó un test para evaluar la intolerancia a la lactasa, observándose los genotipo de NPL en el 57% de los voluntarios, entre los cuales el 87% eran THE (+) y la prevalencia de intolerancia a la lactosa observada fue del 34%⁵¹.

Otra investigación, con mayor número de muestras, realizó el genotipaje para el SNP -13910 C/T en varias subpoblaciones: polinesios de la isla de Pascua (Rapa Nui), amerindios (Mapuche), mestizos de la región de Araucanía, mestizos urbanos de Santiago y mestizos rurales de la región de Coquimbo, demostrándose diferenciación genética entre las poblaciones nativas y mestizas, la frecuencia de PL en los Mapuche y Rapanui fue del 10% y 25% respectivamente, mientras que entre los mestizos, la frecuencia de PL es cercana al 40%. En general, el genotipo más frecuente fue el C/C, por lo tanto la NPL fue predominante en todas las poblaciones, aunque hubo diferencias importantes entre estas subpoblaciones chilenas, la mayor frecuencia de la

NPL se encontró en la población mapuche (90%), mientras que la frecuencia más baja se encontró en Santiago (60%)⁵².

2.13 CONSUMO DE LÁCTEOS EN EL PERÚ

En el año 2004 la ganadería vacuna en el Perú era la segunda actividad en aporte al sector agropecuario, participando con el 11.5% del valor de la producción nacional, actualmente la industrialización de la leche en el Perú está destinada principalmente para la producción de leche evaporada y pasteurizada. Respecto a la producción lechera, el 10% de las cabezas de ganado vacuno son vacas de ordeño, siendo la región de Cajamarca la que presta mayor población de vacas de ordeño. Arequipa, Lima y Cajamarca representan el 70% de la producción total y son las principales zonas de producción de leche fresca⁵³.

La industria lechera se encuentra representada por tres grandes empresas: Gloria, Nestlé y Laive, con plantas distribuidas en las más importantes cuencas lecheras. Las industrias realizan la compra directa a los productores y transportan la leche desde las unidades agropecuarias hasta las plantas procesadoras. El abastecimiento de leche, tradicionalmente, se concentraba en las cuencas ganaderas del Norte y Sur, donde Nestlé y Gloria tenían sus respectivas redes de acopio. Sin embargo, en los últimos años, la industria láctea, incluyendo éstas y otras empresas, ha expandido sus redes de acopio a casi toda la costa y zonas de la sierra, lo cual ha incrementado de manera significativa la competencia en esta etapa del proceso productivo; la producción de estas cuencas tiene como destino las plantas procesadoras, programas sociales, venta a productores de queso, venta directa al público, autoconsumo y alimentación de terneros^{53,54}.

A nivel del consumo, la leche y los derivados lácteos son parte de la canasta básica familiar, sin embargo, respecto al consumo *per cápita* de lácteos, el Perú es uno de los países que tiene el menor nivel de consumo de la región con 65-70 kg per cápita por año expresada como leche fluida, niveles equivalente a la década de los años 70, debido fundamentalmente a aspectos políticos y de mercado, mientras que en países como Argentina y Brasil asciende a 248 kg y 120 kg al año. En el caso de la leche evaporada, el Perú es uno de los países con mayor consumo *per cápita*, ya que en la mayoría de países se consume leche fresca, y la evaporada es utilizada mayormente para otros usos. En tal sentido, la particular preferencia del consumidor local por la leche evaporada se explica principalmente por factores de gustos y/o preferencias de consumo⁵⁴⁻⁵⁶.

Respecto al consumo de leche o productos deslactosados, en los últimos años el Grupo Gloria comercializa leche evaporada u otros productos deslactosados, como el yogurt, mientras que la empresa Laive comercializa la leche evaporada y el yogurt con 0% de lactosa⁵⁷.

La leche es un elemento ideal para el desarrollo humano y ayuda a combatir la desnutrición infantil formando parte de programas sociales en el Perú, tales como el Programa Nacional de Alimentación Escolar y el programa del Vaso de Leche ^{54,56}.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 MUESTRAS BIOLÓGICAS

La muestra consistió de un total de 173 muestras de ADN pertenecientes a personas mayores de 18 años, quienes no tenían grado de parentesco, constituidos por 109 mujeres y 64 varones, las muestras provenían de los departamentos de Lima (provincia de Huarochirí y provincia de Lima, Cusco (provincia de Calca) y Puno (provincia de Puno) .

Las muestras de ADN genómico de los departamentos de Lima y Puno utilizadas en este estudio fueron obtenidas del banco de ADN de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, las muestras del departamento de Cusco se obtuvieron de frotices bucales en la ciudad de Calca. Todas las muestras contaron con los permisos y/o consentimientos informados para el estudio.

Las muestras fueron agrupadas por subpoblaciones siendo el número de personas en Huarochirí-Lima =23, Lima =97, Puno=30 y Calca-Cusco =23.

3.1.2 MATERIALES, REACTIVOS Y OTROS.

3.1.2.1 Materiales

Material de Vidrio: Probetas, matraces, beakers, fiolas, pipetas.

Material de Plástico: Tubos Ependorff, Tips, Guantes, etc.

Material para hisopado bucal.

Buffer Tris Borato EDTA (TBE)

Fluorescent dye reagent (GeneOn).

Geles de Agarosa.

Azul de bromofenol, Xilencianol.

Marcadores de peso molecular, agua grado Biología Molecular.

Genomic DNA Purification kit (Thermo Scientific).

Deoxinucleótidos: dATP, dCTP, dGTP, dTTP.

Primers:

Primer F: 5'-GCTGGCAATACAGATAAGATAATGGA-3'

Primer R: 5'-CTGCTTTGGTTGAAGCGAAGAT-3'

Enzima Taq polimerasa + Buffer + MgCl₂ (Thermo Scientific).

Enzima restricción HinfI + Buffer (Thermo Scientific).

3.1.2.2 Equipos

Termociclador modelo Veriti (Applied Biosystems, USA).

Incubadora.

Microcentrifuga.

Cámaras electroforéticas horizontal.

Fuente de poder

Refrigeradora, Congeladora.

Autoclave, Potenciómetro, Balanza analítica, etc.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 GENOTIPIFICACIÓN

Se realizó la genotipificación del polimorfismo -13910 C/T, relacionado con la persistencia de la lactasa, se realizó a través de la técnica de PCR-RFLP.

3.2.1.1 Obtención de muestras

Las muestras obtenidas del banco de ADN fueron extraídas de sangre según metodología descrita por Miller *et al.* (1998)⁵⁸ y las muestras provenientes de Cusco fueron extraídas a partir de muestras del epitelio bucal siguiendo el protocolo descrito por Sandoval *et al.* (2013)⁵⁹.

3.2.1.2 Amplificación de ADN

Se amplificó el fragmento que contiene el sitio polimórfico mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa lo reportado por Mendoza *et al.* (2014)¹⁶. Las reacciones de amplificación se realizaron con la enzima Taq polimerasa y primers específicos. La región que contiene el SNP -13910 C/T fue amplificada por PCR con los primers F y R, con un tamaño de amplificado de 201 pares de bases.

El amplificado se realizó en un volumen final de 12,5 uL, con 8,15 uL de agua, 1,25 uL de Buffer Taq polimerasa KCl 10X, 0,25 uL de Mix dNTP 10 uM, 0,75 uL de MgCl₂ 25 mM, 0,2 uL

de los primers (cebadores) F y R 10 uM, 0,2 uL de Taq polimerasa (5U/ μ L) y 1.5 uL de ADN genómico (100 ng/uL).

La reacción de PCR se llevó a cabo en el termociclador Verti según las siguientes condiciones (Tabla N° 1):

Tabla N° 1. Condiciones de la PCR.

Desnaturalización inicial	95 °C por 10 min
35 ciclos :	
Desnaturalización	95 °C por 1 min
Alineamiento	59 °C por 1 min
Extensión	72 °C por 1 min
Extensión final	72° C por 10 min

Se comprobó la amplificación mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, usando 5 uL de ADN amplificado combinado con 1 uL de colorante fluorescent dye reagent, marcador de peso molecular Gene Ruler 100 pb (Fermentas), solución buffer Tris borato EDTA (TBE) 1X y voltaje constante de 110 V /30 min.

3.2.1.3 Restricción

La restricción se realizó según las instrucciones del fabricante (Thermo scientific), y adaptado a las condiciones del laboratorio del departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La restricción se realizó en un volumen total de 15 uL siendo los volúmenes de la mezcla de reacción: 8 uL de agua; 1,5 uL de buffer R 10X; 0,5 uL de la enzima de restricción HinfI (10 U/ uL) y 5 uL del amplificado. Se incubó a 37°C por 12 horas. El resultado de la restricción, es decir los genotipos, se visualizaron bajo luz UV luego de realizar la electroforesis en gel de agarosa al 3 %.

La enzima HinfI corta cuando sólo está presente el alelo T. Para el genotipo homocigoto T/T se producen dos fragmentos de restricción, uno de 177 pb y otro de 24 pb (en el gel de agarosa, sólo se visualiza el fragmento de 177 pb pues el otro es muy pequeño). La presencia de un único fragmento de 201 pb (la enzima HinfI no realiza el corte) corresponde con el homocigoto C/C. Por último, la presencia de dos fragmentos de 201 y 177 pb en el gel agarosa, nos indica al genotipo heterocigoto C/T. (Anexos, Figura N° 1).

3.2.1.4 Secuenciamiento

Para confirmar los genotipos obtenidos por la técnica PCR-RFLP, parte de las muestras amplificadas fueron secuenciadas (método automático de Sanger) en el CGBM de la Facultad de Medicina de la USMP (Anexos, Figura N° 2).

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

3.3.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas, y se realizó la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg (equilibrio genético). También se calculó el índice de diferenciación genética (F_{st}).

3.3.2 ESTADÍSTICA COMPARATIVA

Se realizaron pruebas comparativas entre subpoblaciones peruanas y otras poblaciones del mundo según la naturaleza de los datos.

Para los análisis estadísticos se utilizaron los programas HWsim, Epidat 3.1 y Genetix 4.05.

IV. RESULTADOS

La población de estudio estuvo constituida por cuatro subpoblaciones peruanas de los departamentos de Lima, Cusco y Puno; el 56.1% Lima, el 13.3 % de Huarochirí-Lima, el 13.3 % Calca- Cusco, y 17.3 % de Puno (tabla N° 2).

Tabla N° 2. Subpoblaciones incluidas en el estudio.

Población	Subpoblación	N	%
Lima	Lima	97	56,1
	Huarochirí-Lima	23	13,3
Cusco	Calca-Cusco	23	13,3
Puno	Puno	30	17,3
Total	-	173	100

La muestra estuvo conformada principalmente por mujeres (63%) en todas las subpoblaciones, Lima 55.7 %, Huarochirí-Lima 56.5 %, Calca-Cusco 73.9% y Puno 83.3 %; el 37 % del total fueron varones (tabla N° 3).

Tabla N° 3. Distribución de las subpoblaciones según el género.

Población	Subpoblación	Sexo n (%)	
		Femenino	Masculino
Lima	Lima	54 (55,7)	43 (44,3)
	Huarochirí-Lima	13 (56,5)	10 (43,5)
Cusco	Calca- Cusco	17 (73,9)	6 (26,1)
Puno	Puno	25 (83, 3)	5 (16,7)
TOTAL		109(63.0)	64(37.0)

4.1 FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS.

La frecuencias genotípicas en la población total fueron: 97.7% para el genotipo C/C, 2.3% para el genotipo C/T y 0% para el genotipo T/T. Respecto a las subpoblaciones, Lima presentó un 96.9 % para el genotipo C/C, un 3.1 % para el genotipo C/T; la muestras de Huarochirí-Lima y Calca-Cusco presentaron un 100% para el genotipo C/C; la subpoblación de Puno presentó un 96.7 % para el genotipo C/C y 3.3 % para el genotipo C/T (tabla N° 4).

Tabla N° 4. Distribución de frecuencias genotípicas del polimorfismo LCT -13910 C/T.

Población	Subpoblación	N	Genotipos ^a (%)		
			C/C	C/T	T/T
Lima	Lima	97	94(96.9)	3(3.1)	0(0.0)
	Huarochirí-Lima	23	23(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
Cusco	Calca- Cusco	23	23(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
Puno	Puno	30	29(96.7)	1(3.3)	0(0.0)
TOTAL		173	169 (97.7)	4(2.3)	0(0.0)

^a No hay diferencias significativas cuando se comparan las frecuencias genotípicas entre los pares Lima vs Huarochirí-Lima, Calca-Cusco vs Huarochirí-Lima, Lima vs Calca-Cusco, Huarochirí-Lima vs Puno, Lima vs Puno y Calca-Cusco vs Puno ($p > 0.05$ según test exacto de Fisher).

Las frecuencias alélicas, en general, presentan un 98.8 % para el alelo C y 1.2 % para el alelo T; en la subpoblación de Huarochirí-Lima y Calca-Cusco un 100% para alelo C, en Lima un 98.5% el alelo C y el 1.5 % el alelo T y Puno un 98.3 % el alelo C y el alelo T el 1.2% (tabla N°5).

Tabla N° 5. Distribución alélica del polimorfismo LCT -13910 en las subpoblaciones evaluadas.

Población	Subpoblación	N	Alelos ^b (%)	
			C	T
Lima	Huarochirí-Lima	23	46(100.0)	0 (0.0)
	Lima	97	191(98.5)	3(1.5)
Cusco	Calca-Cusco	23	46(100.0)	0(0.0)
Puno	Puno	30	59(98.3)	1(1.7)
Total	-	173	342(98.8)	4 (1.2)

^b No hay diferencias significativas cuando se comparan las frecuencias alélicas entre los pares Lima vs Huarochirí-Lima, Huarochirí-Lima vs Calca-Cusco , Lima vs Calca-Cusco, Huarochirí-Lima vs Puno, Lima vs Puno y Calca-Cusco vs Puno ($p > 0.05$ según test exacto de Fisher).

4.2 EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG.

En genética de poblaciones, el principio de Hardy-Weinberg (HW) (también equilibrio de Hardy-Weinberg o ley de Hardy-Weinberg) es un principio básico de la genética de poblaciones, establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural ni ningún otro factor y no se produzca ninguna mutación. Ya que en una población panmíctica (es decir, donde los individuos se aparean al azar), de gran tamaño y donde todos los individuos son igualmente viables y fecundos, el proceso de la herencia, por sí mismo, no cambia las frecuencias alélicas ni genotípicas de un determinado locus^{49, 60}.

El modelo Hardy-Weinberg, típicamente, se utiliza como hipótesis nula, y el constatar desviaciones significativas de lo esperado según el modelo es indicio que no se ajusta a lo asumido por el modelo⁶⁰.

Se calcularon las frecuencias genotípicas esperadas según el equilibrio de Hardy Weinberg en la muestra total y por subpoblaciones a partir de las frecuencias genotípicas para el homocigoto recesivo (C/C), heterocigoto (C/T) y homocigoto dominante (T/T). No se realizaron en las subpoblaciones de Calca-Cusco y Huarochirí-Lima ya que los genotipos C/C son el 100% de la muestra.

En la muestra global el X^2 fue 0.0237 obtuvo un valor $p=1,0$; el X^2 fue de 0.0239 en Lima y 0.0086 en Puno, igualmente con un $p=1,0$. Los valores p se obtuvieron luego de 1000 simulaciones (tabla N° 6).

Tabla N° 6. Equilibrio de Hardy-Weinberg en las subpoblaciones.

Subpoblación	X^2	P
Muestra total	0.0237	1.0
Lima	0.0239	1.0
Puno	0.0086	1.0

En todos los casos, la prueba X^2 genera valores p no significativos, es decir, se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, esto demuestra que no están influenciados por factores evolutivos.

4.3 ANÁLISIS DE DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

El índice F_{st} es el grado de diferenciación génica entre las poblaciones en función de las frecuencias alélicas, es la probabilidad de que dos alelos idénticos por descendencia (provenientes de una población ancestral) se combinen en un huevo o cigoto. Si el F_{st} es 0, indica que las frecuencias alélicas son iguales en las poblaciones comparadas y por tanto no hay diferenciación. El F_{st} máximo posible es de 1, es decir cuando las frecuencias alélicas son completamente diferentes en las poblaciones estudiadas. En los estudios que contemplan una menor área geográfica, se debe esperar menor diferenciación que en estudios que abarcan un área muy grande⁶¹.

En la investigación, se realizó la medición del F_{st} (con 1000 permutaciones) entre subpoblaciones de Huarochirí-Lima, Lima, Calca-Cusco y Puno; siendo -0.00373 el F_{st} entre Lima y Huarochirí-Lima; -0.00373 el F_{st} entre Lima y Calca-Cusco, -0.01089 entre Puno y Lima, -0.00458 entre Puno y Huarochirí-Lima, -0.00458 entre Calca-Cusco y Puno. No se realizó la comparación F_{st} entre Calca-Cusco y Huarochirí-Lima ya que tenían las mismas frecuencias genotípicas. Los valores negativos se interpretaron como 0, es decir, no existe o es muy pequeña la diferenciación genética (tabla N° 7).

Tabla N° 7. Valores de F_{st} (según Weir y Cockerham) con 1000 permutaciones de los genotipos de las subpoblaciones peruanas.

F_{st}	Huarochirí-Lima	Calca-Cusco	Puno
Lima	-0.00373	-0.00373	-0.01089
Huarochirí-Lima		-	-0.00458
Calca-Cusco			-0.00458

También se realizó la medición del F_{st} entre subpoblaciones de Lima, Huarochirí-Lima, Calca-Cusco, Puno y la muestra de Lima reportado en el proyecto 1000 genomas: entre Lima y Lima-1000 genomas es 0.05585, Huarochirí-Lima y Lima-1000 genomas, y Calca-Cusco y Lima-1000 genomas es 0.05029 y entre Puno y Lima 1000 genomas es 0.03284 (tabla N° 8).

Tabla N° 8. Cálculo del F_{st} entre subpoblaciones evaluadas de Lima y de los datos tomados de Lima del proyecto 1000 genomas⁶².

F_{st}	Lima (proyecto 1000 Genomas).
Lima	0.05585
Huarochirí-Lima	0.05029
Calca-Cusco	0.05029
Puno	0.03284

4.4 ANÁLISIS CON OTRAS POBLACIONES DEL MUNDO.

Se recopilaron los genotipos y alelos de diferentes poblaciones en el mundo, agrupándose por continentes, en América predomina el genotipo C/C, seguido del genotipo C/T y por último el genotipo T/T ; en Asia y África predomina el genotipo C/C, en Europa predominan los genotipos C/C, C/T y T/T (Tabla N° 9).

Tabla N° 9. Frecuencias de genotipos y alelos de diferentes poblaciones según continente.

Continente	Población	N	Genotipo			Alelo		Referencia
			C/C	C/T	T/T	C	T	
América	Perú, 4 subpoblaciones	173	169(97,7)	4(2,3)	0(0,0)	342	4	Nuestro estudio.
	Perú, Lima (1000 g)	85	69(81,18)	14(16,47)	2(2,35)	152	18	62
	Colombia, Medellín	94	49(52,13)	32(34,04)	13(13,83)	130	58	62
	Colombia	128	102(79,69)	26(20,31)	0(0,0)	230	26	48
	Colombia-Étnias	361	317(87,81)	44(12,19)	0(0,0)	678	44	16
	Chile (amerindios)	144	106(73,61)	32(22,22)	6(4,17)	244	44	50
	Chile, Santiago	58	30(51,72)	26(44,83)	7(12,07)	86	40	26
	Chile	783	511(65,26)	232(29,63)	40(5,11)	1254	312	52
	Chile-isla de pascua	139	109(78,42)	29(20,86)	1(0,72)	247	31	49
	Brasil (caucásicos-africanos)	32	22(68,75)	7(21,88)	3(9,38)	51	13	63
	Brasil	10	6(60,0)	1(10,00)	3(30,0)	13	7	23
	Brasil	20	10(50,0)	7(35,0)	3(15,0)	27	13	47
	Houston (nativos)	88	63(71,59)	23(26,14)	2(2,27)	149	27	64
	EE,UU (ancestros mexicanos, Californ.)	50	25(50,0)	20(40,0)	5(10,0)	70	30	64
	EE,UU (ancestros mexicanos, Californ.)	64	37(57,81)	23(35,94)	4(6,25)	97	31	62
Asia	Japón-Tokio	45	45(100,0)	0(0,0)	0(0,0)	90	0	64
	China -Beijing	103	103(100,0)	0(0,0)	0(0,0)	206	0	62
	China (nativos)	373	359(96,25)	14(3,75)	0(0,0)	732	14	14
	Vietnam	99	99(100,00)	0(0,0)	0(0,0)	198	0	62
	Israel(etnias)	439	394(89,75)	42(9,57)	3(0,68)	830	48	15
África	Nigeria	58	58(100,0)	0(0,0)	0(0,0)	116	0	64
	Yemen	40	38(95,0)	1(2,50)	1(2,50)	77	3	45
	Arabes, shuwa	53	48(90,57)	1(1,89)	4(7,55)	97	9	45
	Americanos, origen africano	61	43(70,49)	15(24,59)	3(4,92)	101	21	62
Europa	Italia-Toscana	88	72(81,82)	14(15,91)	2(2,27)	158	18	64
	España poblaciones ibéricas	107	34(31,78)	48(44,86)	25(23,36)	116	98	62
	España-Galicia	134	97(72,39)	29(21,64)	8(5,97)	223	45	12
	Finlandia	99	14(14,14)	53(53,54)	32(32,32)	81	117	62
	Alemania	417	88(21,10)	221(53,0)	108(25,90)	397	437	65
	Austria	490	98(20,0)	260(53,06)	132(26,94)	456	524	65
	Británicos en Inglaterra y Escocia	91	9(9,89)	33(36,26)	49(53,85)	51	131	62

Se compararon las frecuencias alélicas del polimorfismo LCT -13910 C/T de la muestra peruana total (n=173) con otras poblaciones del mundo recopiladas en la tabla previa (Tabla N° 10).

Tabla N° 10. Comparación de las frecuencias de los alelos del polimorfismo -13910 C/T en la población peruana (n=173) con otras poblaciones según continente.

CONTINENTE	POBLACIÓN	N	ALELOS		p ^a
			% C	T%	
	Perú, 4 subpoblaciones	173	98,8	1,2	-
América	Perú-Lima(1000 genomas)	85	89,4	10,6	0,00
	Colombia –Medellín	94	69,1	30,9	0,00
	Colombia	128	89,8	10,2	0,00
	Grupos étnicos colombianos (afro descendientes, indígenas y mestizos)	361	93,9	6,1	0,00
	Chile (ancestría amerindia)	144	84,7	15,3	0,00
	Chile	58	65,5	34,5	0,00
	Chile	783	80,1	19,9	0,00
	Chile- Isla de pascua	139	88,8	11,2	0,00
	Brasil(caucásicos y africanos)	32	79,7	20,3	0,00
	Brasil	10	65	35	0,00
	Brasil	20	67,5	32,5	0,00
	EE,UU (nativos, Houston)	88	84,7	15,3	0,00
	EE,UU (ancestros mexicanos , California)	64	75,8	24,2	0,00
	EEUU(ancestros mexicanos , california)	50	70	30	0,00
Asia	Japon-Tokio	45	100	0	0,59
	China –Beiging	103	100	0	0,30
	China (nativos)	373	98,1	1,9	0,46
	Vietnam	99	100	0	0,32
	Israel (etnias)	439	94,5	5,5	0,00
África	Nigeria	58	100	0	0,58
	Yemen	40	96,3	3,8	0,13
	Arabes shuwa, África Occidental	53	91,5	8,5	0,00
	Ancestros africanos del suroeste de EE,UU	61	82,8	17,2	0,00
Europa	Italia-Toscana	88	89,8	10,2	0,00
	España -poblaciones ibéricas	107	54,2	45,8	0,00
	España-Galicia	134	83,2	16,8	0,00
	Finlandia	99	40,9	59,1	0,00
	Alemania	417	47,6	52,4	0,00
	Austria	490	46,5	53,5	0,00
	Británicos en Inglaterra y Escocia	91	28	72	0,00

V. DISCUSIÓN

En los años 60 se publicaron las primeras observaciones sobre la malabsorción de lactosa en adultos. En la actualidad, se estima que las dos terceras partes de la población mundial presentan intolerancia a la lactosa, con una distribución muy variable entre las diferentes etnias y áreas geográficas, e incluso entre subpoblaciones⁶⁷.

La HPTA es una condición altamente prevalente en todo el mundo, variando de acuerdo a las características étnicas de la población en los diferentes países, con baja prevalencia en poblaciones caucásicas desde el norte de Europa (5%), y sus descendientes en América del Norte y Oceanía. La mayoría de los individuos de las poblaciones del sur de Europa y mediterránea (habitantes del sur de Italia, los griegos y los judíos) es hipolactásica³⁴.

Se han identificado polimorfismos genéticos determinantes del fenotipo de PL o NPL (denominada también hipolactasia y relacionada a intolerancia a la lactosa)²⁶, siendo el polimorfismo C/T -13910 la principal determinante de PL/NPL en Europa y en algunas poblaciones de África⁶⁵.

En América Latina las frecuencias de PL pueden variar de acuerdo con el grado de mestizaje de las poblaciones, aunque la evaluación de todos los loci implicados en la regulación de la PL aún no se ha realizado para poblaciones Sudamericanas. Existen estudios que han demostrado que el SNP - 13910 C/T está relacionada con la PL en América²³, específicamente en la mayoría de mestizos de América del Sur y las poblaciones indígenas de Chile⁷³. Sin embargo, también hay estudios que difieren y sugieren que no hay asociación entre este SNP y la PL en algunas

poblaciones de Colombia⁴⁸ y Brasil ya que en su población hay un gran predominio africano siendo posible que otras mutaciones puedan estar relacionadas con PL⁴⁴.

En el Perú, el año 1965, con pruebas bioquímicas se observó por primera vez, problemas de absorción de lactosa en niños y adultos; en 1971 se reportó una alta prevalencia en adultos normales peruanos, en un total de 180 individuos entre 12 años a más, resultando 63,3% de intolerancia y un 83,9 % de malabsorción de la lactosa¹⁷. En el 2001 se realizó un estudio de tolerancia a la lactosa en 56 pacientes mestizos, mostrando 50 (89%) intolerancia y los otros 6 (11%) tolerantes, las características demográficas fueron similares en ambos grupos, no hubo diferencias en cuanto a edad, sexo y grupo étnico⁶⁶.

En el Perú, sólo se han reportado datos fenotípicos, por ello la investigación realizada comprende la determinación de las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP -13910 C/T en subpoblaciones peruanas, de los departamentos de Lima, Cusco y Puno, los participantes fueron mayores de 18 años, donde Lima representa el 56,1% de la muestra total (Tabla N° 2), presentando una predominancia del género femenino (63 %) en la muestra total (Tabla N° 3). En un total de 173 individuos, con 346 alelos representados, se encontró 169 homocigotos silvestres (C/C) y 4 heterocigotos (C/T), no encontrándose homocigotos mutantes (T/T) (Tabla N° 4).

El genotipo C/C, asociado con la NPL en el norte de Europa¹⁶, estuvo presente en el 97,7% de las muestras peruanas evaluadas. El genotipo heterocigoto C/T representa el 2,3 % en la muestra global, en la subpoblación de Lima es el 3,1% y en la población de Puno, con mayor predominancia nativo

americana⁵⁹, es el 3,3% (Tabla N° 4), lo que sugiere que otros SNPs pueden estar involucrados a la NPL en estas subpoblaciones.

La frecuencia del alelo T, asociada a la PL, fue baja en la muestra total con 1,2%, y específicamente en las subpoblaciones de Lima y Puno fueron 1,4 y 1,7% respectivamente (Tabla N° 5).

La comparación de frecuencias genotípicas (C/C y C/T) y alélicas (C y T) no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$ según prueba Chi cuadrado o test exacto de Fisher) entre Lima, Huarochirí-Lima, Calca-Cusco y Puno. La población total y las subpoblaciones se encuentran en equilibrio genético de Hardy-Weinberg para el SNP LCT -13910 C/T (Tabla N° 6).

Se utilizó el índice F_{st} para estimar la diferenciación genética en las subpoblaciones. Los valores de F_{st} , cuando se comparan las subpoblaciones de Lima, Huarochirí-Lima, Calca-Cusco y Puno son cercanos a 0, es decir el grado de diferenciación genética entre las poblaciones, en función de las frecuencias alélicas, no existe o es muy pequeña (Tabla N° 7).

El análisis de F_{st} entre las 4 subpoblaciones y los datos de Lima proporcionado por el proyecto 1000 genomas⁶², es igual o menor a 0,05, siendo baja la diferenciación genética, El mayor valor se encuentra entre Lima 1000 genomes⁶² y Lima siendo la diferenciación genética moderada (Tabla N° 8).

La diferencia que se encuentra entre los genotipos y alelos de Lima-1000 genomes⁶² y nuestros datos es moderada, que puede explicarse por la diversidad étnica en el Perú, además del lugar de muestreo, y que los distritos de Lima se

caracterizan por pueden ser de un estrato socioeconómico diferente a las poblaciones estudiadas (un mayor componente caucásico).

La alta frecuencia de la PL es típica de poblaciones con una larga historia de pastoreo y ordeño⁴⁷. En el Perú existió la domesticación de camélidos (alpaca y llama) en los Andes, sin embargo no hay registros, ni mitos que mencionen el ordeño de camélidos⁷¹. La ganadería en el Perú se inicia con la introducción de ganado criollo traído por los españoles en la época de la Colonia (siglos XVI- XVII), y algunos cruces mejorados con Brown Swiss y Holstein⁶⁹.

Se ha sugerido que la población endémica de Mesoamérica nunca estuvo expuesta a los productos lácteos hasta después de la llegada de los europeos a América⁶⁸ y que el alelo -13910T fue introducido por la migración europea al Perú (portando esta variante hace aproximadamente 500 años) extendiéndose rápidamente en los descendientes mestizos hispanos hasta las poblaciones de la América contemporánea⁷².

Esto muestra relación con los resultados genotípicos y alélicos obtenidos en la muestra global, en Lima (3,1% del genotipo C/T implicado en la PL) se tiene un mayor componente mestizo, es una ciudad multicultural y biodiversa ya que han existido diferentes olas migratorias (internas y externas) desde la época de la colonia hasta la actualidad (migración rural hacia las zonas urbanas y la centralización).

Los resultados encontrados en Puno (3,3 %) son mayor que los de Lima, sugiriendo que las muestras de Puno tienen un componente distinto, sin embargo, estas diferencias con las otras subpoblaciones estudiadas no son significativas.

En la subpoblación de Huarochirí-Lima, sierra de Lima, el genotipo C/C estuvo presente en el 100% de la muestra, en Cusco en la provincia de Calca los resultados fueron del 100% para el genotipo C/C, siendo compatible con el bajo nivel de mestizaje pues la gran mayoría de los participantes eran quechua hablantes.

Las frecuencias genotípicas en otros países indican que en América el genotipo C/C es predominante (50-87,81%), en Asia (89,8-100,0%), África (70,5-100,0%), variando en Europa (10,0-81,2%) siendo bajo en británicos de Inglaterra y Escocia (10%), en Finlandeses (14 %) y alto en Italia y España con 82 y 72 % respectivamente (tabla N° 9).

Las frecuencias del alelo C (98,8 %) en la muestra global de peruanos, fueron las más altas comparadas, y muestran diferencias significativas ($p=0,00$), con otras poblaciones de América (rango 65,0-93,9%), Europa y Asia (Israel). Se encontraron similitudes en las frecuencias alélicas con poblaciones asiáticas (94,5-100,0%) como Japón, China y Vietnam, y poblaciones africanas (82,8- 100 %) como Yemen y Nigeria (Tabla N° 10).

La migración europea explica por qué en la mayor parte de las Américas, incluyendo a México, encontramos cifras mayores al 50% del fenotipo de intolerancia a la lactosa⁶⁸, siendo los grupos indígenas de América del Sur los que presentan la menor proporción de los individuos con PL⁵², son varios los estudios que relacionan la PL en América con el SNP LCT -13910.

En Chile, en el 2011, se reporta el 78% de intolerancia y un 22% de tolerancia a la lactosa en la población general estudiada, donde el 78% poseían el genotipo C/C, el 21% C/T, el 1% los alelo T/T⁴⁹. En el 2012, se comparó el test genético (SNPs

C/T-13910 y otras variantes) con el THE demostrando asociación de la NPL con este SNP, teniendo el genotipo C/C (51,7%), C/T (27,6%) y T/T (20,7%); se demostró un alto rendimiento diagnóstico del test genético²⁶.

En el 2013, en el país sureño, se registró una frecuencia de NPL del 74% en la IX región de la Araucanía, prevaleciendo los grupos mapuche en un 90%⁵⁰. En el 2014 se evaluó la malabsorción de lactosa mediante THE y se analizó el SNPs -13910 C/T, se observó el genotipo NPL (C/C) en el 57%, y la prevalencia de intolerancia a la lactosa observada fue del 34%⁵¹. Los últimos estudios demostraron diferenciación genética entre las poblaciones nativas y mestizas con el genotipaje del SNP LCT-13910 C/T, siendo la frecuencia en PL en los Mapuche y Rapanui de 10% y 25%, respectivamente, mientras que entre los mestizos está cerca del 40%, predominando la NPL, el genotipo más frecuente fue C/C (60-90 %), con diferencias importantes entre poblaciones⁵².

Se observó que los datos de Chile en comparación con los nuestros, en general, guardan relación o son similares, ya que predomina el genotipo C/C , siendo un 97,7 %, en nuestra investigación, sin embargo, entre las subpoblaciones peruanas no se han encontrado diferencias significativas, en comparación con las subpoblaciones chilenas, lo que sugiere que existe un mayor componente nativo americano en las muestras peruanas estudiadas, inclusive mestizas, tal como se han reportado con otros marcadores genéticos⁵⁹.

En Brasil, se demostró relación entre la presencia del SNP -13910 C/T y la absorción de la lactosa, el 50% fue C/C, el 35% C/T y el 15 % T/T⁴⁷ ,por lo que se considera un buen indicador para el diagnóstico de la mal absorción de lactosa²³, Sin embargo, otros estudios sugieren que el test genético de este SNP es

suficiente para el diagnóstico de HPTA en poblaciones caucásicas, recomendando un mayor estudio en poblaciones afrodescendientes y asiáticas ya que el alelo -13910T relacionado con la PL, estuvo presente en alrededor del 43% de los blancos y en el 20% de los brasileños negros y ausente entre todos los brasileños japoneses estudiados^{34, 44}.

En Colombia, 1969 se realizó un estudio del test de tolerancia a la lactosa donde el 58,3 % de adultos indios Chami produjeron síntomas digestivos, los resultados sugirieron una alta frecuencia de la deficiencia de lactasa en los indios de América del Sur⁷⁰, el 59 % de la población muestreada presenta hipolactasia, las frecuencias alélicas y genotípicas difieren según el perfil étnico y se ha sugerido que la posibilidad de diagnóstico molecular de LP/HPTA en base a los SNPs europeos, -13910 C/T y -22018 G/A son escasos ya que hay mucha predominancia de descendientes africanos y pueden estar relacionados a otros SNPs^{16,48}.

Existen varios estudios de la HPTA y aspectos genéticos en Brasil y Colombia, siendo distintos los resultados con el SNP -13910 C/T, debido a los diferentes componentes étnicos (asiáticos, afrodescendientes, caucásicos, nativos), existiendo más variabilidad si lo comparamos con el Perú, y teniendo en cuenta que no se ha muestreado en zonas con mayor componente afroamericano.

El estudio del SNP LCT -13910 C/T en ancestros mexicanos de California, indica que el 58% presenta el genotipo C/C, el 36 % el genotipo C/T y el 6 % T/T⁶², otra fuente expresa que el 50% representa el genotipo C/C, el 40 % representa el genotipo C/T y el 10% el genotipo T/T⁶⁴. En nuestros estudios, los valores de C/C son mayores que los reportados por México a pesar de tener eventos históricos similares (conquista, colonización, mestizaje), sin embargo falta realizar estudios que reporten la relación de este SNP con la PL.

En España en 2006, en niños, adolescentes y población gallega control, se encontraron dos variantes polimórficas relacionadas con el fenotipo de PL/NPL, -13910 C/T y -22018 G/A, el 38,3% del genotipo G/G + C/C, 38,4% de personas con alteraciones del metabolismo de la lactosa mediante THE con el 100% de sensibilidad en los niños gallegos mayores de 6 años, sugiriendo su uso para el diagnóstico de la HPTA en la población gallega¹², Así mismo para las poblaciones ibéricas de España se indican un 32 % del genotipo C/C, 45 % del genotipo C/T y 23% para el T/T del SNP -13910 C/T⁶².

La población española presenta un porcentaje del genotipo C/C menor al reportado en este estudio (97,7%), posiblemente debido a que España es un país peninsular, y se sitúa entre dos Continentes (Europa y África) con diversas tradiciones culturales.

En general, en el Perú, se observa que la intolerancia a la lactosa, según datos bioquímicos, varía entre un 63,0-83,0% y un 83,9 % de malabsorción de lactosa^{17,66}. Ahora, los datos genéticos obtenidos en nuestra investigación, se pueden complementar, preliminarmente, con los datos bioquímicos, para inferir que puede existir una alta prevalencia de la no persistencia de la lactasa y de intolerancia a la lactosa en población peruana.

Estos primeros resultados con base genética en subpoblaciones peruanas pueden tener implicancias en alimentación y salud pública, pues podrían repercutir en la ejecución u operatividad de programas sociales a nivel nacional, ya que la baja digestión de la lactosa (debido a la no persistencia de la lactasa) impediría la absorción correcta de nutrientes, además que las molestias generadas por la intolerancia a la lactosa, puede modificar negativamente la conducta de consumo

de productos lácteos^{4,23}. Así, es indispensable un nuevo enfoque en cuanto a la disposición y desarrollo de productos deslactosados en el mercado nacional para consumo directo e indirecto.

VI. CONCLUSIONES

- No se encontraron diferencias respecto a la distribución del polimorfismo -13910 C/T del gen LCT/MCM6 implicado en la persistencia de la lactasa e intolerancia a la lactosa entre subpoblaciones de Lima, Huarochirí-Lima, Calca-Cusco y Puno.
- Las frecuencias genotípicas (C/C, C/T y T/T) del polimorfismo -13910 C/T en el gen LCT/MCM6 en subpoblaciones peruanas de Lima, Cusco y Puno, fueron del 97,7 % para el genotipo C/C, y el 2,3% para el genotipo C/T en la muestra global, no se encontraron genotipos T/T en las muestras evaluadas.
- El alelo C del polimorfismo -13910 en el gen LCT/MCM6 fue predominante en las subpoblaciones peruanas evaluadas con un 98,8%, el alelo T se presentó en el 1,2% de la muestra total.
- Existen diferencias y similitudes de los alelos del polimorfismo C/T -13910 en el gen LCT/MCM6 entre las subpoblaciones peruanas con otras poblaciones del mundo. En especial las diferencias fueron significativas ($p=0,000$) con los países de Sudamérica (Chile, Brasil y Colombia), que varían entre el 10-30% para el alelo T.

VII. RECOMENDACIONES

Según los resultados, se recomienda lo siguiente:

- Ampliar los estudios de este polimorfismo genético y complementarlo con las pruebas fenotípicas y otros factores que determinen la malabsorción y/o intolerancia a la lactosa en subpoblaciones peruanas, que permitan una mayor comprensión de este aspecto en la salud nutricional del país.
- Realizar estudios respecto a los programas sociales que usan productos con lactosa como ingrediente principal que se aplica a niños, adolescentes y adultos, y relacionarlos con aspectos genéticos y fenotípicos.
- Evaluar el impacto en la industria láctea respecto al uso de productos con lactosa y el efecto en los consumidores, además de fomentar el conocimiento respecto al tema y ayudar a mejorar la calidad de vida.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FAO. Leche y productos lácteos, visto 19/10/15, Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/es/#,vius3divddg>.
2. INEI. Consumo per cápita de los principales alimentos, Perú 2008-2009, visto: 20/10/15, Disponible en: http://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1028/cap01.pdf.
3. Dávila M. Consumo de la leche de llama (*Lama glama*) en los andes peruanos, Cien Des. 2007; 8: 5-18.
4. Wilt TJ, Shaukat A, Shamliyan T, Taylor BC, MacDonald R, Tacklind J, et al. Lactose intolerance and health. Evid Rep Technol Assess, 2010; 192: 1–410.
5. Domínguez JL, Fernández SA, Ruiz TS, Puente GJJ, Cerezo A. Test de tolerancia a la lactosa reducido a 30 minutos: un estudio exploratorio de su factibilidad e impacto, Rev Esp Enferm Dig. 2014; 106(6): 381-385.
6. Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment, United European Gastroenterol J. 2013; 1(3):151-159.
7. Labuschagne IL, Lombard MJ. Understanding lactose intolerance and the dietary management thereof. S Afr Fam Pract. 2012; 54(6): 496-498.
8. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia, EFSA Journal. 2010; 8(9):1-29.
9. Arias M. Frecuencia y Expresión de la Tolerancia e Intolerancia a la Lactosa en Población de la Isla de Pascua, Chile [Internet], Santiago, Chile: Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Sociales; [citado: 2015, noviembre], Disponible en: <http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/112634>.

10. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L and Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia, *Nat Genet.* 2002; 30: 233-237,
11. Itan Y, Jones BL, Ingram CJ, Swallow DM, Thomas MG. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes, *BMC Evol Biol.* 2010; 10:36.
12. Tocoian AV. Patrón Genético de la Hipolactasia de tipo adulto en los niños y adolescentes de Galicia [Tesis doctoral], Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de medicina; 2006.
13. Ingram C, Elamin M, Mulcare C, Weale M, Tarekegn A, Raga T, *et al.* A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: Multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet.* 2007; 120: 779-788.
14. Sun H, Qiao Y, Chen F, Xu L, Bai J, Fu S. The lactase gene -13910t allele cannot predict the lactase-persistence phenotype in north china. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007; 16 (4):598-601.
15. Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B, Birk R. Frequency of LCT -13910 C/T and LCT-22018 G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene.* 2013; 519: 67–70.
16. Mendoza TE, Varela PL, Villarreal CJ, Rodríguez FM, Hernández AE, Silvera RC *et al.* Análisis de los polimorfismos europeos en el gen lactasa entre grupos étnicos del caribe colombiano. *Acta bioquím. clín. Latinoam.* 2014; 48(4):457-463.
17. Barua R. 44 años de Avances en Etiopatogenia, Diagnóstico y Tratamiento del Síndrome Flatulencia. *Rev, Gastroenterol.* 2010; 30(2): 148-152.
18. Ingram CJ, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum Genet,* 2009; 124: 579–591.
19. Mądry E, Fidler E, Walkowiak J. Lactose intolerance – current state of knowledge. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2010; 9(3): 343–350.
20. Fox P. Lactose: Chemistry and properties, In: *Advanced dairy chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, Springer-Verlag; 2010, p 1.
21. Al-Abri A, Bayoumi R. The Phenotype/Genotype Correlation of Lactase Persistence among Omani Adults. *Oman Med J,* 2013; 28(5): 341-344.

22. Infante D. Intolerancia a la lactosa: en quién y por qué. *An Pediatr (Barc)* 2008; 69(2):103-5.
23. Bulhões AC, Goldani HAS, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (*LCT*) gene in adult-type hypolactasia. *Braz J Med Biol Res*, 2007; 40(11): 1441-1446.
24. Lomer MC, Parkes GC, Sanderson JD. Review article: lactose intolerance in clinical practice—myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008; 27: 93-103.
25. Gheyntanchi E, Heshmati F, Kordestani SB, Nowroozi J, Movahedzadeh F. Study on b-galactosidase enzyme produced by isolated lactobacilli from milk and cheese. *Afr J Microbiol Res*, 2010; 4(6): 454-458.
26. Rollán A, Vial C, Quesada S, Espinoza K, Hatton M, Puga A, et al. Diagnóstico de intolerancia a la lactosa en adultos: rendimiento comparativo de la clínica, test de hidrógeno espirado y test genético. *Rev. Méd. Chile* 2012; 140(9): 1101-1108.
27. Bulhões ACS. Lactase persistence and milk consumption in Europe: an interdisciplinary approach involving genetics and archaeology. *Documenta Praehistorica XL* 2013; 40(1):84-96. DOI: 10.4312/dp.40.8
28. Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterol J*. 2013; 1(3): 151-159.
29. Mattar R, de Campos Mazo DF, Carrilho FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol*, 2012; 5:113-121.
30. Honkanen R, Pulkkinen P, Järvinen R, Kröger H, Lindstedt K, Tuppurainen M, Uusitupa M. Does Lactose Intolerance Predispose to Low Bone Density? A Population-Based Study of Perimenopausal Finnish Women. *Bone*, Jul 1996; 19(1):23-28.
31. Bhim S, Pandhi , Lactose Intolerance and Other Disaccharidase Deficiency Balvir S, Tomar, 2014.
32. Lamri A, Poli A, Emery N, Bellili N, Velho G, Lantieri O et al. The lactase persistence genotype is associated with body mass index and dairy consumption in the D,E,S,I,R, study. *Metabolism clinical and experimental*, 2013; 62: 1323- 29.
33. Corella D, Arregui M, Coltell O, Portoles O, Guillem-Saiz P, Carrasco P, et al. Association of the *LCT*-13910C>T polymorphism with obesity and its

modulation by dairy products in a Mediterranean population. *Obesity*, 2011; 19(8):1707-14.

34. Castagna WA, Simon D, Da Silveira TR. Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto: uma nova visão do diagnóstico de um problema antigo e frequente. *Rev Assoc Med, Rio Grande Do Sul*, 2013; 57 (4): 335-343.
35. Aragón JJ, Hermida C, Martínez-Costa OH, Sánchez V, Martin I, Sánchez JJ, et al. Non invasive Diagnosis of Hypolactasia With 4-Galactosylxylose: A Multicentre, Open-Label, Phase IIB-III Nonrandomized Trail. *J Clin Gastroenterol*, 2014; 48(1): 29-36.
36. Rahn K, Bailey MD, Pozo C, et al. Lactose Intolerance and Health Disparities among African Americans and Hispanic Americans: An Updated Consensus Statement. *Journal of the National Medical Association*, 2013, Vol, 105(2): 112-127.
37. Hasan MN, Sultan MZ, Mar-E-Um M. Significance of Fermented Food in Nutrition and Food Science. *J. Sci. Res.*, 2014; 6 (2): 373-386.
38. Amiri M, Diekmann L, von Köckritz-Blickwede M, Naim HY. The Diverse Forms of Lactose Intolerance and the Putative Linkage to Several Cancers. *Nutrients*, 2015; 7(9):7209-30.
39. Jesper T, TroelsenT, Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005; 1723: 19-32.
40. Enattah NS. Molecular Genetics of Lactase Persistence. PhD disertación, university of Helsinki, 2005.
41. Leibert A. The milkyd bars are on me, In: *Lactase persitence and its trace within DNA: Cap, 5, Illustrated ed, York. 2012, pags. 75-86.*
42. Janukonyté J, Vestergaard EM, Ladefoged SA, Nissen PH. High-resolution melting analysis using unlabeled probe and amplicon scanning simultaneously detects several lactase persistence variants. *Scand J Clin Lab Invest*, 2010; 70(8):535-40.
43. Jones BL, Oljira T, Liebert A, Zmarz P, Montalva N, Tarekeyn A. Diversity of lactase persistence in African milk drinkers. *Hum Genet*, 2015 Aug; 134(8):917-25.
44. Friedrich DC. A diversidade do gene LCT e a persitencia da lactase na populacao brasileira, (Tesis doctoral), Universidad de Federal Do Rio Grande Do Sul; 2013.
45. Priehodová E, Abdelsawy A, Heyer E, Černý V. Lactase Persistence Variants in Arabia and in the African Arabs. *Human Biology*, 2014; 86(1): 7–18.

46. Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Silva JM, Carrilho FJ. Frequency of LCT -13910 C>T single nucleotide polymorphism associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among brazilians of different ethnic groups. *Nutrition Journal*, 2009; 8:46, doi: 10, 1186/1475-2891-8-46.
47. Bulhões ACS. Análise molecular do gene da lactase- floricina hidrolase em individuos tolerantes e intolerantes lactose, (tesis maestría). Universidad federal Do rio Grande Do Sul, Facultad de medicina, Porto Alegre, 2006. [http://www,lume,ufrgs,br/handle/10183/11355](http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/11355).
48. Mendoza E, Varela I, Villarreal I, Villanueva D. Diagnosis of adult-type hypolactasia /lactase persistence: genotyping of single nucleotide polymorphism (SNP C/T-13910) is not consistent with breath test in Colombian Caribbean population. *Arq Gastroenterology*, 2012; 49(1):5-8.
49. Arias M. Frecuencia y Expresión de la Tolerancia e Intolerancia a la Lactosa en Población de la Isla de Pascua, Chile, (tesis pregrado). Universidad De Chile, Facultad De Ciencias Sociales, Departamento De Antropología, 2011.
50. Fernández C. Aspectos biológicos y culturales del patrón genético de no persistencia de lactasa y su relación con las prácticas alimentarias en poblaciones con ancestría amerindia de la IX región de la Araucanía, (tesis pregrado). 2013.
51. Latorre G, Besa P, Parodi C ,Ferrer V, Azocar L, Quirola M et al. Prevalence of lactose Intolerance in Chile: A Double-Blind Placebo Study, *Digestion*, 2014; 90:18–26.
52. Fernandez C, Montalva N, Arias M, Hevia M, Moraga M, Flores S. Lactase Non-Persistence and General Patterns of Dairy Intake in Indigenous and Mestizo Chilean Populations. *Am, J, Hum, Biol*, 2015, DOI: 10,1002/ajhb,22775.
53. Zavala MCadena de la leche, análisis del sector lácteo peruano, Dic 2010, visto 09/10/15, Disponible en: [http://www2,congreso,gob,pe/sicr/cendocbib/con3_uibd,nsf/07FA140372063F0905257980005B4D54/\\$FILE/analisis_sector_lacteo_peruano, pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd,nsf/07FA140372063F0905257980005B4D54/$FILE/analisis_sector_lacteo_peruano.pdf).
54. Infoláctea. La industria de leche y derivados lácteos en el Perú. visto 02/12/15, Disponible en: [http://infolactea,com/productos/la-industria-de-leche-y-derivados-lacteos-en-el-peru/](http://infolactea.com/productos/la-industria-de-leche-y-derivados-lacteos-en-el-peru/).
55. Diario Gestión. Perú consume menos leche per cápita por aspectos políticos y de mercado, advierte Agalep, *Diario Gestión*, 01 de junio 2014; sec, Economía, Visto en 05/12/15, Disponible en: <http://gestion,pe/economia/peru-consume-menos-leche-per-capita-aspectos-politicos-y-mercado-advierte-agalep-2098991>, 2014.

56. Midis (portal Web). Qali warma, Consultado 02 diciembre 15, Disponible en : <http://www.qaliwarma.gob.pe/>.
57. Día Uno—El Comercio .Segmentación hasta el detalle. Disponible en: <http://www.arellanomarketing.com/inicio/segmentacion-hasta-el-detalle/>. Visto (12/11/14)
58. Miller SA, Dykes D, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988 ; 16(3): 1215.
59. Sandoval JR, Salazar GA, Acosta O, Castillo HW, Fujita R, et al. Tracing the Genomic Ancestry of Peruvians Reveals a Major Legacy of Pre-Columbian Ancestors. *J Hum Genet*, 2013; 58(9):627-34.
60. Villanueva R. Derecho a la salud, perspectiva de género y multiculturalismo [libro electrónico]. 1a ed, Lima: Palestra Editores; 2009 (consultado 01/12/15).
61. Piñero D. et al. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México DF. *Capital natural de México*, vol, I: Conocimiento actual de la biodiversidad, Conabio, México, 2008, 415-435.
62. Proyecto 1000 genomas disponibles en: <http://browser.1000genomes.org>.
63. Mattar R, Basile-Filho A; Kemp R; Santos JS. Comparison of Quick Lactose Intolerance Test in duodenal biopsies of dyspeptic patients with single nucleotide polymorphism LCT-13910C>T associated with primary hypolactasia/lactase-persistence. *Acta Cir, Bras*, 2013; 28 (1): 77-82.
64. Proyecto internacional Hapmap, Visto 11/05/15, Disponible en: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>.
65. Krüttli A, Bouwman A, Akgül G, Della Casa P, Rühli F, Warinner C. Ancient DNA Analysis Reveals High Frequency of European Lactase Persistence Allele (T-13910) in Medieval Central Europe. *Plos One*, 2014; 9(1): 1-8.
66. Montes TP, Soria MJ, Gamarra EZ y Monge SE. Análisis de la prueba de tolerancia a la lactosa. *Rev Gastroent*, 2001; 21: 282 -286.
67. Arroyo M, Alcedo J. Intolerancia a la lactosa: diagnóstico y tratamiento. *Revista Jano*, 2004; 66: 46-50.
68. Román S, Ojeda C, Panduro A. Genética y evolución de la alimentación de la población en México. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 2013; 21(1):42-51.

69. Ríos JA. Enfoques Integrales de Producción Ganadera en la Amazonia Peruana. Arch, Latinoam, Prod, Anim, 2007; 15 (Supl 1): 234-240.
70. Alzate, Gonzalez F, Guzman J. Lactose Intolerance in South American Indians. American journal of clinical nutrition, 1969; 22(2): 122-123.
71. Gade WD. Nature and culture in the Andes, Capítulo 6: The Andes as a Dairyless civilization: llamas and alpacas as un milked animals. 102-117, EEUU, University of Wisconsin Sistema, 1999.
72. Morales E, Azocar L, Maul X, Perez C, Chianale J, Miquel JF. The European lactase persistence genotype determines the lactase persistence state and correlates with gastrointestinal symptoms in the Hispanic and Amerindian Chilean population: a case-control and population-based study. BMJ Open, 2011; 1(1), e000125.

IX. ANEXOS

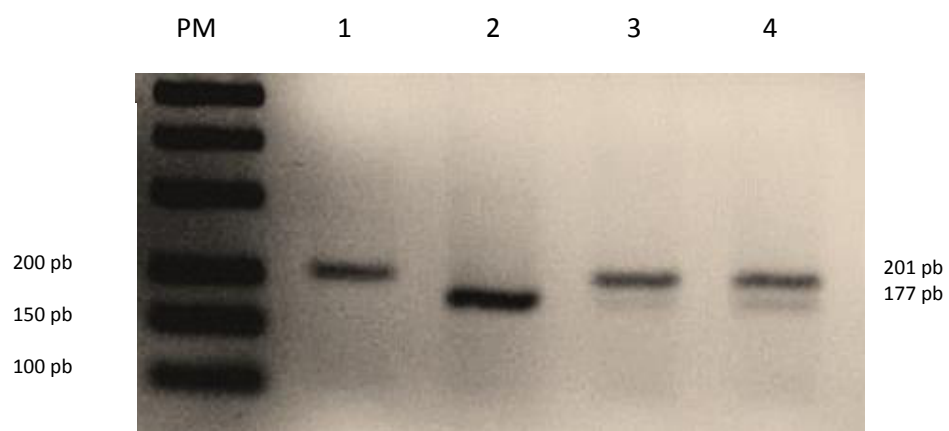


Figura N° 1. Gel de agarosa teñido con reactivo Fluorescent dye, mostrando las bandas correspondientes a los tres genotipos para el polimorfismo LCT -13910 C/T, Carril 1: homocigoto C/C (201 pb); carril 2: Referencia del genotipo T/T (muestra finlandesa), Carril 3 y 4: heterocigotos C/T (201 y 177 pb). Nota: No se aprecia la banda de 24 pb. PM: marcador de peso molecular Kappa universal, pb: pares de bases.

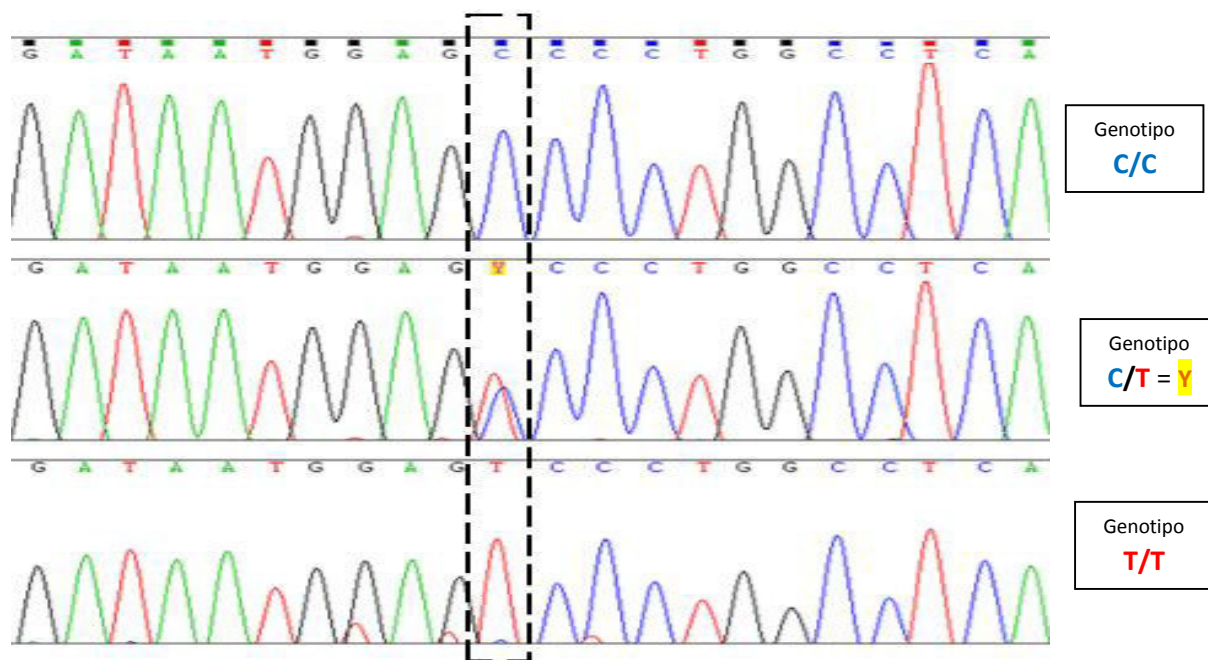


Figura Nº 2. Electroferogramas de las secuencias parciales con los genotipos característicos C/C, C/T y T/T para el polimorfismo LCT -13910 C/T.